

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE – UNICENTRO  
DOUTORADO ASSOCIADO EM QUÍMICA UEL/UEPG/UNICENTRO  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA – DEQ

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO *Pleurotus ostreatus* PARA BIODIESEL**

GUILHERME POZZOBOM PAVANELLO

Guarapuava

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE – UNICENTRO  
DOUTORADO ASSOCIADO EM QUÍMICA UEL/UEPG/UNICENTRO  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA – DEQ

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO *Pleurotus ostreatus* PARA BIODIESEL**

GUILHERME POZZOBOM PAVANELLO

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada – Universidade Estadual do Centro-Oeste. Área de concentração: Físico-Química.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Rogério Pinto Rodrigues.

Guarapuava  
2022

Catálogo na Publicação  
Rede de Bibliotecas da Unicentro

P337e Pavanello, Guilherme Pozzobom  
Estudo da atividade antioxidante do *Pleurotus ostreatus* para biodiesel /  
Guilherme Pozzobom Pavanello. -- Guarapuava, 2022.  
xi, 94 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste em Ampla  
Associação com UEL/UEPG, Programa de Pós-Graduação em Química.  
Área de concentração: Físico-Química, 2022.

Orientador: Paulo Rogério Pinto Rodrigues  
Banca Examinadora: Najeh Maissar Khalil, Sandra Regina Masetto  
Antunes, Maria Luiza Fernandes Rodrigues, Rodrigo Sequinel

Bibliografia

1. Cogumelo ostra. 2. Simplex centroide. 3. Biocombustíveis. 4.  
Estabilidade oxidativa. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação Química.

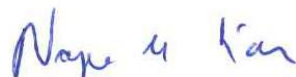
CDD 540

## GUILHERME POZZOBOM PAVANELLO

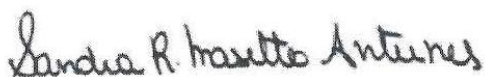
ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO *Pleurotus ostreatus* PARA BIODIESEL

Tese apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, para a obtenção do título de Doutor.

Aprovada em 15 dezembro de 2022.



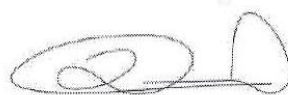
Prof. Dr. Najeh Maissar Khalil – UNICENTRO



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Regina Masetto Antunes – UEPG



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Luiza Fernandes Rodrigues - UTFPR



Prof. Dr. Rodrigo Sequinel – UFPR



Prof. Dr. Paulo Rogério Pinto Rodrigues – Orientador

GUARAPUAVA – PR, 2022

Dedico esta tese primeiramente a Deus pelo dom da vida e tornar tudo isso possível.  
Também a minha família: esposa Dianine e ao meu filho João Guilherme. Aos meus familiares: falecidos pai Wanderlei Pavanello e avô Olindo Pozzobom, mãe Rosani e pai Italo, minha avó Gleni, tia Marta, irmão Alexandre e cunhada Deise Cristina.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente minha esposa Dianine pelo amor, parceria, paciência, incentivo, ombro amigo, resiliência e ajuda. Em segundo ao meu filho João Guilherme por ser a fonte de motivação, garra e inspiração para terminar essa jornada. Em terceiro aos meus familiares, meu falecido e primeiro pai Wanderlei pelo suporte espiritual, à minha mãe Rosani e segundo pai Italo pelo incentivo e motivação. Em especial ao meu irmão Alexandre, pelos conselhos, dicas, ombro amigo, inspiração e entre tantas outras.

Agradeço muito em especial ao meu orientador Dr. Paulo Rogério Pinto Rodrigues pelos conselhos, puxões de orelha, dicas, ombro amigo, paciência, dedicação e ensinamentos, os quais levo pro resto da vida. Também ao Tiago Sawczen, Guilherme Turcatel, Nayara Boschen, Douglas Kais, Rafael Becker Maciel, Camilo Bastos, Marilei de Fátima Oliveira e Herta Stutz.

*Minha energia é o desafio,  
minha motivação é o impossível,  
e é por isso que eu preciso  
ser, à força e a esmo, inabalável.*

*Augusto Branco*

## RESUMO

O biodiesel é um combustível renovável, apresentando diversas vantagens econômicas e ambientais. Entretanto o biodiesel pode sofrer oxidação, se tornando necessário o uso de antioxidantes. Os antioxidantes normalmente adicionados industrialmente ao biodiesel são os sintéticos, como por exemplo o terc-butil-hidroquinona, TBHQ. Neste estudo misturas do *Pleurotus ostreatus* (cogumelo Shimeji), ácido cítrico e a vitamina E foram analisadas como antioxidantes para o biodiesel metílico de soja. Ensaios de aceleração oxidativa para amostras de biodiesel foram executadas utilizando-se o equipamento Rancimat® a 110 °C. Estudos de delineamentos experimentais dos resultados dos ensaios de estabilidade oxidativa, para o uso do *Pleurotus ostreatus* (P.O) na concentração 5 g L<sup>-1</sup> mostrou um período de indução (P.I) da ordem 9,28 horas (h), enquanto a mistura de P.O 2,5 g L<sup>-1</sup> com 75 ppm de vitamina E mostrou que o melhor PI encontrado foi de 10,91 ± 0,09 h, indicando um sinergismo no processo cinético antioxidativo do biodiesel, além de cumprir o mínimo de PI exigido pela norma EN 14214, podendo esta mistura ser empregada na substituição dos antioxidantes sintéticos para biodiesel. Os ensaios cinéticos mostraram o processo oxidativo do biodiesel B100 (sem antioxidante) segue a ordem 1 ( $k = 1,0277 \text{ s}^{-1}$ ), e que na presença de *Pleurotus ostreatus* e na mistura de 2,5 g L<sup>-1</sup> com 75 ppm de vitamina E ( $k = 0,4758 \text{ s}^{-1}$ ) foram da mesma ordem, ou seja, que em presença dos antioxidantes não houve mudança no processo cinético de oxidação do biodiesel. A análise termodinâmica da mistura P.O 2,5 g L<sup>-1</sup> com 75 ppm de vitamina E, mostrou  $E_a = 49,87 \text{ kJmol}^{-1}$ ,  $\Delta H^\ddagger = 46,61 \text{ kJmol}^{-1}$ ,  $\Delta S^\ddagger = -131,33 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$  e  $\Delta G^\ddagger = 95,61 \text{ kJmol}^{-1}$ , tratando-se um processo inibidor oxidativo não espontâneo, endotérmico e com menor desorganização reacional oxidativo, quando comparado a amostra B100:  $E_a = 29,06 \text{ kJmol}^{-1}$ ,  $\Delta H^\ddagger = 25,80 \text{ kJmol}^{-1}$ ,  $\Delta S^\ddagger = -179,20 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$  e  $\Delta G^\ddagger = 92,67 \text{ kJ mol}^{-1}$ .

Palavras-chave: cogumelo ostra; simplex centroide; biocombustíveis; estabilidade oxidativa



## ABSTRACT

Biodiesel is a renewable fuel, with several economic and environmental advantages. However, biodiesel may oxidize, then the need to use antioxidants. The antioxidants normally added industrially to biodiesel are synthetic ones, such as tert-butylhydroquinone, TBHQ. In this study, mixtures of *Pleurotus ostreatus* (Shimeji mushroom), citric acid and vitamin E were analyzed as antioxidants for methyl soy biodiesel. Oxidative acceleration assays for biodiesel samples were performed using the Rancimat® equipment at 110 °C. Experimental design studies of the oxidative stability tests, for the use of *Pleurotus ostreatus* (P.O) in the concentration 5 g L<sup>-1</sup>, showed an induction period (P.I) of the order of 9.28 h; for the mixture P.O 2,5 g L<sup>-1</sup> and 75 ppm of vitamin E, showed that the best PI found was 10.91 ± 0.09 h, indicating synergy in the kinetic antioxidant process of biodiesel, in addition to meeting the minimum PI required, according to EN 14214 Standard. This result indicated that the mixture P.O 2,5 g L<sup>-1</sup> and 75 ppm of vitamin E can be used to replace synthetic antioxidants for biodiesel. The kinetic tests showed that the oxidative process of biodiesel B100 (without antioxidant) follows the order 1 ( $k = 1.0277 \text{ s}^{-1}$ ) and that in the presence of *Pleurotus ostreatus* in the mixture of 2.5 g L<sup>-1</sup> and 75 ppm of vitamin E ( $k = 0.4758 \text{ s}^{-1}$ ) followed the same order, resulting that in the presence of antioxidants there was no change in the kinetic process of biodiesel oxidation. The thermodynamic analysis of the mixture P.O 2.5 g L<sup>-1</sup> and 75 ppm of vitamin E, showed  $E_a = 49.87 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $\Delta H^\ddagger = 46.61 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $\Delta S^\ddagger = -131.33 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  and  $\Delta G^\ddagger = 95.61 \text{ kJ mol}^{-1}$ , being a non-spontaneous, endothermic oxidative inhibitory process and lower oxidative reactional disorganization, when compared to sample B100:  $E_a = 29.06 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $\Delta H^\ddagger = 25.80 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $\Delta S^\ddagger = -179.20 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  and  $\Delta G^\ddagger = 92.67 \text{ kJ mol}^{-1}$ .

Key words: oyster mushroom; simplex centroid; biofuels; oxidative stability

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1</b> - Reação de transesterificação do triacilglicerol com catálise básica. ....  | 16 |
| <b>Figura 2</b> - Mecanismo da reação de transesterificação do triacilglicerol em meio básico.<br>.....  | 17 |
| <b>Figura 3</b> - Estrutura química dos ácidos oleico (1), linoleico (2) e linolênico (3) e posições alílicas (o) e bis-alílicas (o). ....               | 21 |
| <b>Figura 4</b> - Estruturas químicas dos antioxidantes hidroxitoluenobutilado (BHT), butil-hidroquinona (TBHQ) E hidroanisobutilado (BHA). ....         | 24 |
| <b>Figura 5</b> - Moléculas antioxidantes naturais, crisina, rutina, ácido ascórbico, ácido cítrico e ergotioneína. ....                                 | 25 |
| <b>Figura 6</b> - Estruturas biológicas de um cogumelo. ....   | 27 |
| <b>Figura 7</b> - Cogumelo ostra ( <i>Pleurotus ostreatus</i> ) em visão superior (A) e lateral (B). ....  | 32 |
| <b>Figura 8</b> - Fluxograma do processo da extração ácida aquosa do <i>Pleurotus ostreatus</i> . ....   | 33 |
| <b>Figura 9</b> - Fluxograma do processo da extração orgânica neutra do <i>Pleurotus ostreatus</i> .<br>.....  | 34 |
| <b>Figura 10</b> - Fluxograma do processo de extração orgânica básica do <i>Pleurotus ostreatus</i> .<br>.....   | 34 |
| <b>Figura 11</b> - Fluxograma do processo de obtenção do biodiesel. ....   | 36 |
| <b>Figura 12</b> - Esquema do funcionamento do equipamento Rancimat <sup>®</sup> . ....  | 37 |
| <b>Figura 13</b> - Diagrama do delineamento experimental simplex centroide e em azul as proporções das misturas realizadas nesse estudo. ....            | 39 |
| <b>Figura 14</b> - Curva de calibração com ácido gálico. ....  | 47 |
| <b>Figura 15</b> - Cromatogramas do extrato orgânico (metanólico): a) tempo de retenção de 6 a 31 minutos, b) tempo de retenção de 31 a 45 minutos. .... | 48 |
| <b>Figura 16</b> - Cromatograma do extrato aquoso ácido do <i>Pleurotus ostreatus</i> . ....   | 51 |
| <b>Figura 17</b> - Cromatograma do extrato básico do <i>Pleurotus ostreatus</i> . ....   | 53 |
| <b>Figura 18</b> - Superfícies de contorno para as temperaturas de 100 °C (A), 110 °C (B) e 120 °C (C). ....   | 57 |
| <b>Figura 19</b> - Gráfico box & whisker plot dos resultados dos experimentos à 110 °C. (---) limite mínimo exigido pela ANP. ....                       | 58 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 20</b> – Diagrama de Pareto para as temperaturas de 100 (A), 110 (B) e 120 (C) °C.<br>.....   | 59 |
| <b>Figura 21</b> - Condições ótimas para o modelo simplex centroide, sendo A) 100°C, B) 110°C e C) 120°C. ....  | 60 |
| <b>Figura 22</b> - Gráfico da extrapolação do tempo de estocagem a 20 (—) e 35°C (—).....   | 65 |
| <b>Figura 23</b> - Gráfico da condutividade elétrica pelo tempo para reação de ordem zero para o biodiesel B100.....  | 66 |
| <b>Figura 24</b> - Gráfico do logaritmo neperiano da condutividade pelo tempo para reação de primeira ordem para o biodiesel B100. ....                               | 66 |
| <b>Figura 25</b> - Gráfico do inverso da condutividade elétrica pelo tempo para reação de segunda ordem para o biodiesel B100. ....                                   | 67 |
| <b>Figura 26</b> - Superfície de contorno para a $E_a$ (A) e A (B). ....  | 71 |
| <b>Figura 27</b> - Gráficos da dispersão entre os valores preditos e observados para a $E_a$ (A) e A (B).....   | 72 |
| <b>Figura 28</b> - Superfície de contorno para $\Delta H^\ddagger$ (A), $\Delta S^\ddagger$ (B), $\Delta G^\ddagger$ (C). ....  | 75 |
| <b>Figura 29</b> - Gráficos da dispersão entre os valores preditos e observados para a $\Delta H^\ddagger$ (A), $\Delta S^\ddagger$ (B), $\Delta G^\ddagger$ (C)..... | 76 |
| <b>Figura 30</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho para o biodiesel B100 (—) e para o ensaio 5 do segundo delineamento experimental (—). ....         | 77 |
| <b>Figura 31</b> - Curva termogravimétrica (TG) e primeira derivada (DTG) para biodiesel B100.<br>.....   | 79 |
| <b>Figura 32</b> - Curva termogravimétrica (TG) e primeira derivada (DTG) para biodiesel ensaio 5. ....   | 80 |
| <b>Figura 33</b> - Curva termogravimétrica e primeira derivada para o <i>Pleurotus ostreatus</i> in natura. ....  | 82 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1</b> – Especificações para o biodiesel no Brasil. ....   | 19 |
| <b>Tabela 2</b> - Composição de ácidos graxos em biodiesel de óleo de soja. ....  | 20 |
| <b>Tabela 3</b> - Antioxidantes com suas respectivas concentrações utilizadas em biodiesel e resultados de período de indução (h) com a porcentagem de aumento. ....                  | 25 |
| <b>Tabela 4</b> - Resultados de período de indução da utilização de antioxidantes naturais encontrados na literatura. ....  | 26 |
| <b>Tabela 5</b> – Estudos sobre a composição de compostos antioxidantes e teor de fenóis da <i>Pleurotus ostreatus</i> . ....   | 28 |
| <b>Tabela 6</b> – Experimentos do delineamento simplex centróide para os diferentes processos de extração no cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> e as suas respectivas misturas. .... | 40 |
| <b>Tabela 7</b> - Experimentos do delineamento simplex centróide para o extrato ácido do <i>Pleurotus ostreatus</i> , vitamina E e ácido cítrico. ....                                | 41 |
| <b>Tabela 8</b> - Nome, % área e estrutura química dos principais compostos com potencial antioxidante encontrados na CG-EM do extrato orgânico. ....                                 | 49 |
| <b>Tabela 9</b> - Nome, relação área/peso e estrutura química dos principais compostos com potencial antioxidante encontrados na CG-EM do extrato com solvente ácido. ....            | 52 |
| <b>Tabela 10</b> - Nome, relação área/peso e estrutura química dos principais compostos com potencial antioxidante encontrados na CG-EM do extrato com solvente básico. ....          | 54 |
| <b>Tabela 11</b> - Resultados da estabilidade oxidativa do biodiesel obtidos com o delineamento de misturas simplex centroide nas temperaturas de 100, 110 e 120 °C. .                | 55 |
| <b>Tabela 12</b> - Resultados das médias de P.I (h) dos experimentos em triplicata para as temperaturas de 100, 110, 120, 130 e 140 °C. ....  | 61 |
| <b>Tabela 13</b> - Resultados da ANOVA® para simplex centroide na temperatura de 100°C. ....  | 63 |
| <b>Tabela 14</b> - Resultados da ANOVA® para simplex centroide na temperatura de 110°C. ....  | 64 |
| <b>Tabela 15</b> - Resultados da ANOVA® para simplex centroide na temperatura de 120°C. ....  | 64 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 16</b> - Resultados da ANOVA para simplex centroide na temperatura de 130°C. ....  | 64 |
| <b>Tabela 17</b> - Resultados da ANOVA para simplex centroide na temperatura de 140°C. ....  | 64 |
| <b>Tabela 18</b> - Resultados de constante de velocidade para o segundo delineamento experimental nas temperaturas de 100, 110, 120, 130 e 140 °C. ....    | 69 |
| <b>Tabela 19</b> - Ea e A para os experimentos do segundo delineamento experimental e biodiesel controle. ....   | 70 |
| <b>Tabela 20</b> - Relação de bandas encontradas no espectro na região do infravermelho médio para o biodiesel B100 e biodiesel com P.I mais elevado. .... | 78 |
| <b>Tabela 21</b> - Eventos de degradação térmica, temperaturas para biodiesel B100 e biodiesel ensaio 5. ....  | 81 |
| <b>Tabela 22</b> - Eventos de degradação térmica do <i>Pleurotus ostreatus</i> . ....  | 82 |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....  | 12 |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....   | 15 |
| 2.1. BIODIESEL .....  | 15 |
| 2.1.1. Produção do biodiesel e mecanismo de reação .....  | 16 |
| 2.1.2. Propriedades físico-químicas .....   | 18 |
| 2.1.3. Oxidação do biodiesel .....  | 20 |
| 2.2. ANTIOXIDANTES .....  | 23 |
| 2.3. COGUMELOS .....  | 26 |
| 2.4. CINÉTICA QUÍMICA .....   | 29 |
| <b>3. OBJETIVOS</b> .....   | 31 |
| 3.1. OBJETIVO GERAL .....   | 31 |
| 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 31 |
| <b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....   | 32 |
| 4.1. COGUMELO <i>Pleurotus ostreatus</i> .....  | 32 |
| 4.1.1. Preparação e aplicação dos extratos de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....  | 33 |
| 4.2. PRODUÇÃO DO BIODIESEL .....  | 35 |
| 4.3. OXIDAÇÃO ACELERADA .....   | 37 |
| 4.3.1. Delineamento experimental para avaliar o potencial antioxidantes dos diferentes extratos do <i>Pleurotus ostreatus</i> ..... | 38 |
| 4.3.2. Delineamento experimental para avaliar o extrato ácida do <i>Pleurotus ostreatus</i> com antioxidantes naturais .....        | 40 |
| 4.4. ESTUDO CINÉTICO .....  | 41 |
| 4.5. ESTUDO DOS PARÂMETROS TERMODINÂMICOS .....   | 43 |
| 4.6. MÉTODOS ANALÍTICOS .....   | 44 |

|   |           |
|---|-----------|
| 4.6.1. Caracterização do <i>Pleurotus ostreatus</i> e do Biodiesel .....  | 44        |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>  | <b>46</b> |
| 5.1. DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO <i>Pleurotus ostreatus</i> ...   | 46        |
| 5.2. PRIMEIRO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....   | 54        |
| 5.3. SEGUNDO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....  | 61        |
| 5.4 CINÉTICA QUÍMICA DOS BODIESEIS B100 E COM PI OTIMIZADO  | 66        |
| 5.4.1 Ordem de reação .....   | 66        |
| 5.4.2 Constante de velocidade (k), Energia de ativação ( $E_a$ ) e fator pré-exponencial (A) para o segundo delineamento experimental ..... | 68        |
| 5.4.3 Parâmetros termodinâmicos .....   | 73        |
| 5.5 Caracterização do biodiesel e do <i>Pleurotus ostreatus</i> .....   | 77        |
| <b>6. CONCLUSÕES .....</b>  | <b>85</b> |
| <b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>  | <b>87</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Desde o surgimento da humanidade há uma dependência de energia para diversas atividades, desde a sobrevivência até o conforto. A partir da primeira guerra mundial essa dependência aumentou de maneira significativa, levando ao uso intenso de fontes não renováveis, tais como: carvão mineral, petróleo e gás natural. Como produto da utilização dessas fontes, há geração de gases como o dióxido de carbono e metano, tais quais, fazem parte do efeito estufa, porém, em concentrações além do ideal, agravam as condições ideais para sobrevivência da raça humana.

Recentemente cientistas apontam que as atividades do homem alteram tanto o equilíbrio do planeta, que superam as mudanças dos ciclos naturais, logo, sugerem uma nova era geológica, o Antropoceno. A etimologia do termo já diz por si só, a era do Homem. A concentração de dióxido de carbono e metano na atmosfera bateram record em 2021, com 415,7 e 1908 ppm, respectivamente. A alta concentração desses gases traz impactos negativos, como as mudanças climáticas.

Entre 1931 a 1940 em São Paulo ocorreram nove tempestades com precipitação superior a 50 mm/dia e somente no ano de 2000 foram registradas 40 tempestades. Adicionalmente, em 2022 na Europa ocorreu uma onda de calor extrema, batendo record de temperatura registrada, de 45°C na Espanha. Tal evento implicou no óbito de 4224 pessoas na Alemanha. Deste modo, as mudanças climáticas devem ser amenizadas de maneira urgente.

Para amenizar os impactos negativos do uso das energias não renováveis estão sendo implementadas energias renováveis, tais como: energia solar, eólica, hidrelétrica e biomassa. A utilização da energia limpa traz benefícios como diminuição de emissão de gases poluentes, dos gastos com importação do combustível fóssil e colaboração com o desenvolvimento sustentável nas áreas econômica, social e ambiental.

O biodiesel é derivado de fontes naturais (óleos vegetais e gordura animal) e vem sendo utilizado como substituto do óleo diesel (derivado do petróleo). Esse biocombustível possui várias vantagens como biocombustível: maior lubrificidade, número de cetano e é biodegradável. Por outro lado, a principal preocupação com o aumento da



inclusão do biodiesel são os parâmetros relacionados à estabilidade oxidativa, pois a biodegradabilidade desse combustível lhe confere pouco tempo de validade.

A degradação por oxidação altera as propriedades físico-químicas do biodiesel, gerando inicialmente hidroperóxidos, que, por sua vez, formam ácidos e aldeídos, que por último, resultam em polímeros de elevada massa molecular. Esses produtos são responsáveis por diversos problemas, como redução da vida útil de peças do motor, mangueiras, filtros, entre outras. Podem também causar danos no setor de distribuição, entupindo bombas de distribuidoras e postos de combustíveis. Portanto, a fim de evitar os problemas anteriormente citados é de extrema importância que o tempo de validade do biodiesel seja superior ao período de consumo pelos automóveis

Para aumentar a vida útil do biodiesel, retardando a oxidação, são empregados antioxidantes sintéticos, tais como o butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ). Contudo, esses compostos, além de serem derivados do petróleo, apresentam alta toxicidade à saúde humana e ao meio ambiente. Com o intuito de os substituir, a comunidade acadêmica vem estudando antioxidantes naturais, como as vitaminas A, C, D, E, os taninos, flavonóides, especiarias (orégano, alecrim, manjeriço), resíduos vegetais e cogumelos.

Os cogumelos pertencem ao reino Fungi e realizam papel fundamental na fixação do carbono em florestas. Quando as plantas fotossintetizam, inalam  $\text{CO}_2$  e expiram  $\text{O}_2$ . Elas pegam o carbono e colocam-no nas suas folhas e troncos, mas 70% do carbono vai para o subsolo. Depois o sistema de raízes troca o carbono por nutrientes, sendo que o carbono acaba sendo armazenado nas paredes celulares dos fungos.

Essa fixação de carbono alimenta a comunidade microbiana e todas as partes da rede alimentar, como ácaros e nematóides. Esses reciclam os nutrientes através do processo alimentar. Portanto, os fungos são essenciais para estabilizar o carbono no solo. Adicionalmente, o carbono pode mover-se de planta para planta por meio da rede micélio dos fungos, favorecendo o crescimento de novas plantas. Portanto, a preservação de florestas e da comunidade fúngica é essencial para a redução do  $\text{CO}_2$  atmosférico.

Além disso, os cogumelos produzem diversos compostos para se proteger do seu próprio estresse oxidativo e afastar predadores. Pode-se citar antibióticos como a penicilina, anti-inflamatórios e antioxidantes como flavonoides, terpenos e vitaminas.

Deste modo, o emprego do cogumelo ostra na produção de biodiesel é significativo devido a sua elevada atividade antioxidante e origem natural. Adicionalmente, não foi encontrado na literatura a utilização dos metabólitos desse organismo em biodiesel, sendo, um estudo inédito. Logo, por meio de técnicas como extração aquosa ácida, orgânica neutra, orgânica básica, oxidação acelerada, simplex centroide e entre outras, foi avaliado a ação antioxidante do *Pleurotus Ostreatus* em biodiesel de soja.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A queima de combustíveis fósseis produz gases de efeito estufa e também material particulado (TEIXEIRA *et al.*, 2012). Estes compostos são nocivos tanto ao meio ambiente quanto aos seres vivos. Devido ao fato de levar milhares de anos para que essa fonte se renove, ela é considerada não renovável. Portanto, com a crescente demanda energética, a substituição de combustíveis fósseis por renováveis se torna cada vez mais necessária. Um dos biocombustíveis que vem substituindo o óleo diesel é o biodiesel, devido a sua miscibilidade com o diesel em qualquer proporção, sendo possível a utilização de misturas binárias diesel/biodiesel, (COPPO *et al.*, 2013; BOSCHEN, 2016; SPACINO *et al.*, 2016; VALENGA *et al.*, 2019).

Ademais, o biodiesel apresenta várias vantagens frente ao diesel, tais como ser derivado de fontes naturais renováveis, o que reduz a dependência do petróleo; ser biodegradável; reduzir as principais emissões de gases de exaustão na atmosfera; possuir alto ponto de fulgor e apresentar excelente lubricidade. Em contrapartida, apresenta algumas desvantagens, como possuir elevado custo para produção (o que pode ser compensado pela utilização de matérias-primas de baixo custo e/ou reutilizadas), aumento nas emissões de NO<sub>x</sub> nos gases de exaustão e baixa estabilidade à oxidação (KNOTHE, 2006).

### 2.1. BIODIESEL

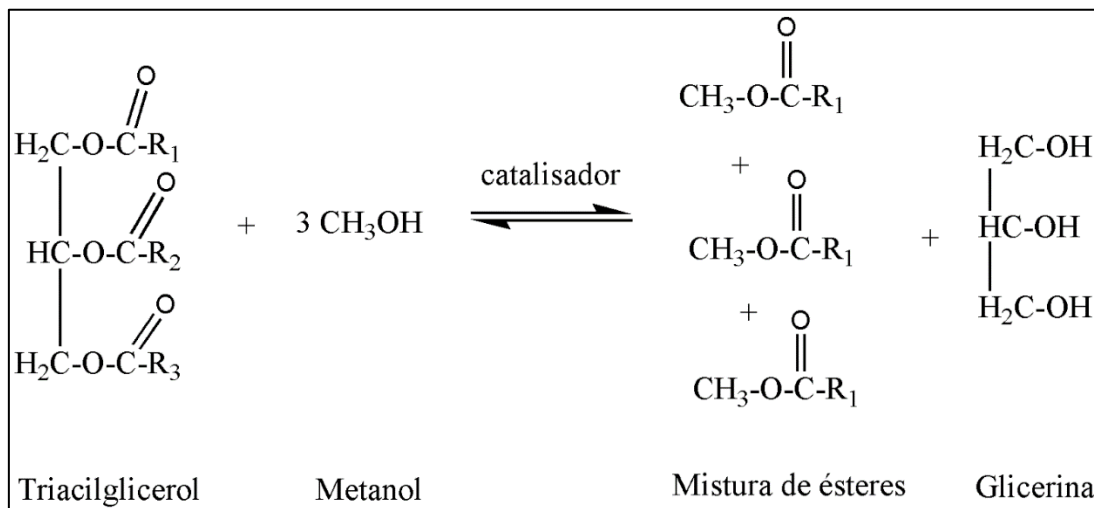
No Brasil, cerca de 45% de energia e 18% de combustíveis utilizados são derivados de fontes renováveis (ANP, 2020). Desta forma, o biodiesel encontra-se em papel de destaque, pois iniciou-se em 2008 a adição de uma pequena porcentagem deste biocombustível no diesel de petróleo, de 2%. Ao longo dos anos esta porcentagem vem aumentando e atualmente está em 12%, com previsão de até 15% para 2023 (MME, 2019). Devido à pandemia do Coronavírus, a ANP publicou a Resolução Nº 821 de 17 de junho de 2020, reduzindo o percentual de biodiesel adicionado ao diesel para 10% por um período específico, porém após este período volta a vigorar 12% (ANP, 2020).

### 2.1.1. Produção do biodiesel e mecanismo de reação

O biodiesel é um biocombustível derivado de óleos vegetais e/ou gordura animal que por meio da reação de transesterificação, que é o processo mais utilizado para produção do biodiesel, os triacilgliceróis, na presença de álcoois monohidroxilados de cadeia curta, são convertidos em ésteres alquílicos (KNOTHE, 2006; MENEGHETTI; MENEGHETTI; BRITO, 2013).

A Figura 1 apresenta a reação de transesterificação dos triacilgliceróis com metanol na presença de um catalisador básico, o hidróxido de potássio. O metanol geralmente é empregado por ser de custo menor, e em alguns países, com exceção no Brasil, que possui alta produção de outro biocombustível, o etanol, que também pode ser utilizado, além de outros álcoois de baixa massa molecular. A catálise básica homogênea leva a processos muito mais rápidos que a rota ácida, e por este motivo utiliza-se o catalisador citado (KNOTHE, 2006).

**Figura 1** - Reação de transesterificação do triacilglicerol com catálise básica.



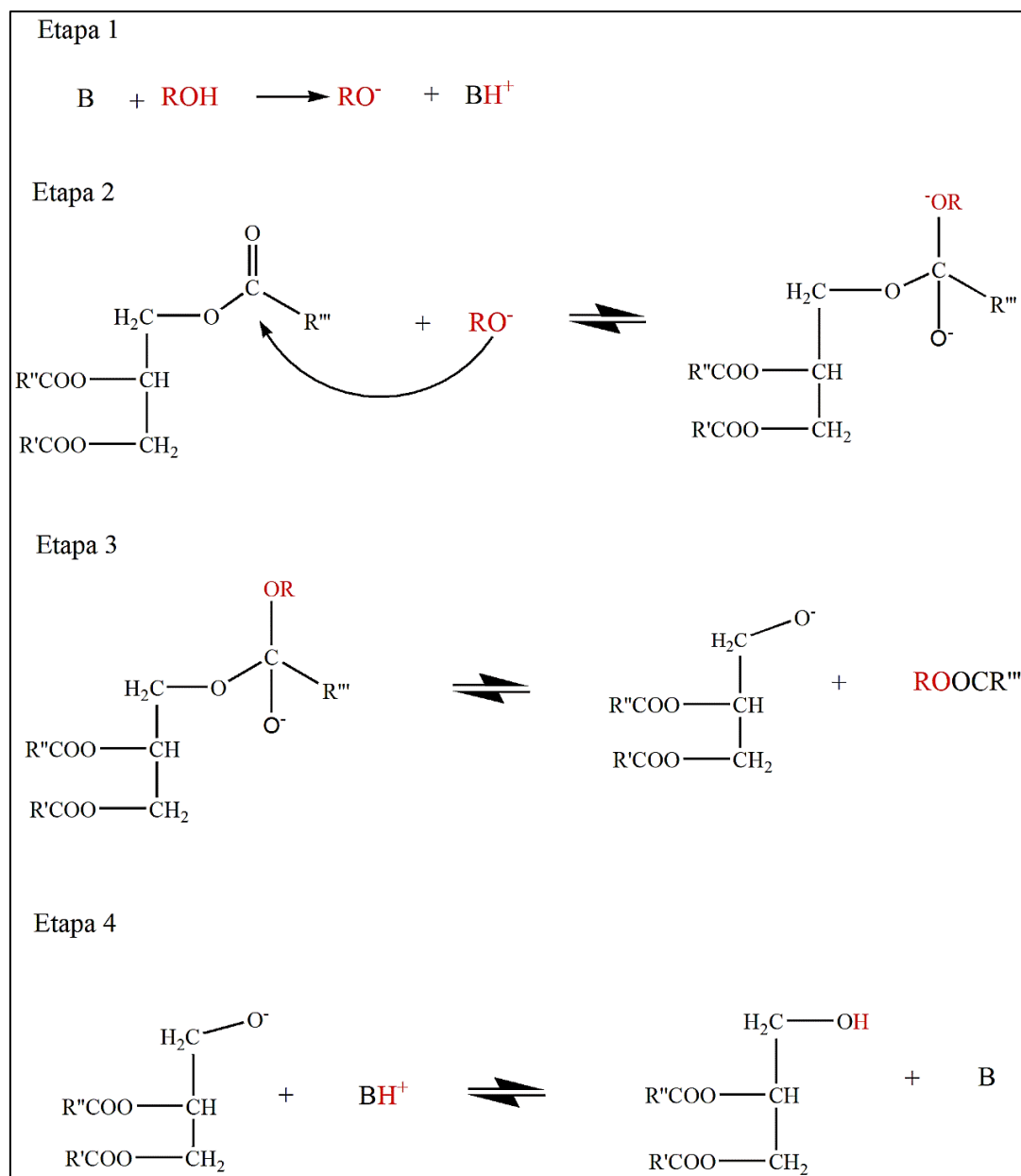
Fonte: BOSCHEN (2019).

A reação de alcoólise (Figura 1) é normalmente catalisada por uma base, onde a mesma desprotona o álcool e o transforma em um nucleófilo mais forte. Deste modo, comumente é utilizado hidróxido de potássio e metanol, resultando em metóxido de potássio. Este, por sua vez, ataca a carbonila com mais facilidade, aumentando a

velocidade de reação e também o rendimento da mesma (MENEGETTI; MENEGETTI; BRITO, 2013; VIOMAR, 2013).

Na Figura 2 estão descritos os mecanismos da reação de transesterificação em meio básico.

**Figura 2** - Mecanismo da reação de transesterificação do triacilglicerol em meio básico.



Fonte: BOSCHEN (2020).

Conforme demonstrado na Figura 3, a primeira etapa do mecanismo para a reação de transesterificação do triacilglicerol é a desprotonação do álcool monohidroxilado de cadeia curta pela base para formar um alcóxido, como por exemplo, metanol e hidróxido de potássio resultando em metóxido. Na segunda etapa ocorre o ataque nucleofílico do alcóxido na molécula de triacilglicerol, produzindo intermediários tetraédricos. Na terceira etapa, ocorre um rearranjo deste intermediário, dando origem aos alquilésteres e outro alcóxido (GARCIA, 2006).

Na última etapa tem-se a formação do éster e a regeneração da base utilizada. Essa reação ocorre até que todas as carbonilas convertam-se em ésteres. Isso se deve ao fato de que o reagente de partida é um triacilglicerol, sendo transformado em diacilglicerol, e, posteriormente, em monoacilglicerol, e finalizando a reação formando glicerol (GARCIA, 2006).

A produção de biodiesel varia de acordo com cada região do planeta, tendo como fontes de matéria-prima graxa mais típicas os óleos vegetais refinados, sendo que cada país aproveita a fonte de triacilglicerol disponível mais abundante para a produção deste biocombustível. Por exemplo, nos Estados Unidos da América são utilizados os óleos de soja e milho, no Brasil, principalmente o óleo de soja, e na União Europeia utilizam-se os óleos de colza, girassol e canola. Em países tropicais, como a Indonésia e a Malásia, predomina o uso de óleo de palma, e nas Filipinas utiliza-se óleo de coco (KNOTHE, 2006; YAAKOB *et al.*, 2014)

Entretanto existem diversos trabalhos na literatura com a utilização de diferentes fontes de matéria-prima para a produção do biodiesel além das citadas anteriormente, tais como óleo de arroz, açafrão, polpa de coco, óleo de fritura, óleo extraído de algas e gorduras animais, como o sebo bovino (GALLINA, 2011; GALVAN, 2014; KLEINBERG, 2019; KNOTHE, 2006, ROSSI *et al.*, 2018).

### 2.1.2. Propriedades físico-químicas

Devido às diferentes metodologias que podem ser aplicadas para a produção de biodiesel, assim como, a possibilidade de utilizar antioxidantes e óleos provenientes de diferentes fontes, a qualidade deste biocombustível deve ser monitorada. Para isto, a

Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis regulamenta parâmetros de controle de qualidade do biodiesel no Brasil, que estão descritos na Resolução da ANP (RANP) Nº 45, de 25 de agosto de 2014, que passa por atualizações constantes.

Ademais, existem outras normas que regulamentam a qualidade do biodiesel no mundo, tais como a americana ASTM D6751 e a europeia EN 12214, estas são reconhecidas internacionalmente (EN14214, 2019; LÔBO; FERREIRA; DA CRUZ, 2009). A tabela 1 traz as especificações para controle de qualidade do biodiesel no Brasil.

**Tabela 1** – Especificações para o biodiesel no Brasil.

| <b>Característica</b>                 | <b>Unidade</b>                    | <b>Especificação</b> |
|---------------------------------------|-----------------------------------|----------------------|
| Aspecto                               | ---                               | L.I.I.*              |
| Massa específica a 20 °C              | kg m <sup>-3</sup>                | 850 – 900            |
| Viscosidade cinemática a 40 °C        | mm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>   | 3,0 – 6,0            |
| Teor de água                          | mg kg <sup>-1</sup>               | máx 200,0            |
| Ponto de fulgor                       | °C                                | mín 100              |
| Teor de éster                         | mg kg <sup>-1</sup>               | mín 96,5             |
| Cinzas sulfatadas                     | mg kg <sup>-1</sup>               | máx 0,020            |
| Enxofre total                         | mg/kg                             | máx 10               |
| Corrosividade ao cobre, 3 h a 50 °C   | classificação                     | máx 1                |
| Número de cetano                      | -                                 | anotar               |
| Ponto de entupimento de filtro a frio | °C                                | máx 19               |
| Sódio + potássio                      | mg kg <sup>-1</sup>               | máx 5                |
| Cálcio + magnésio                     | mg kg <sup>-1</sup>               | máx                  |
| Fósforo                               | mg kg <sup>-1</sup>               | máx 24               |
| Contaminação total                    | mg kg <sup>-1</sup>               | máx 24               |
| Índice de acidez                      | mg <sub>KOH</sub> g <sup>-1</sup> | máx 0,50             |
| Glicerol livre                        | % m m <sup>-1</sup>               | máx 0,02             |
| Glicerol total                        | % m m <sup>-1</sup>               | máx 0,25             |
| Monoacilglicerol                      | % m m <sup>-1</sup>               | máx 0,7              |
| Diacilglicerol                        | % m m <sup>-1</sup>               | máx 0,20             |
| Triacilglicerol                       | % m m <sup>-1</sup>               | 0,2                  |
| Metanol e/ou etanol                   | % m m <sup>-1</sup>               | 0,2                  |
| Índice de iodo                        | g 100 g <sup>-1</sup>             | anotar               |
| Estabilidade à oxidação a 110 °C      | h                                 | mín 12               |

Fonte: ANP (2020).

Legenda: \*LII: Límpido e isento de impurezas.

O monitoramento da qualidade do biodiesel é essencial para garantir o bom funcionamento dos veículos, um comércio justo e também evitar o desperdício de matéria-prima e energia utilizadas no processo de produção, uma vez que o biodiesel adulterado e/ou não-conforme não pode ser comercializado. A oxidação do biodiesel é um fator crítico que influencia fortemente a qualidade do biocombustível.

### 2.1.3. Oxidação do biodiesel

O biodiesel é propenso à oxidação quando exposto ao ar atmosférico, sendo que este processo em etapas avançadas, afeta muito a qualidade do biocombustível, acarretando em consequências tais como: perda de calor de combustão e entupimento de filtros e sistema de injeção de combustível (LÔBO *et al.*, 2009). Diante disso, a comunidade científica vem estudando a estabilidade à oxidação do biodiesel (BORSATO *et al.*, 2010; BOSCHEN, 2016; PAVANELLO, 2017; MOLINARES, 2019; VALENGA, *et al.*, 2019).

A intensidade da oxidação está diretamente relacionada à composição do biodiesel, sendo que, quanto mais elevado o teor de ácidos graxos com insaturações na cadeia carbônica lateral, menor será a estabilidade à oxidação. Na Tabela 2 é apresentado a composição de ácidos graxos do biodiesel de óleo de soja.

**Tabela 2** - Composição de ácidos graxos em biodiesel de óleo de soja.

| Ácido graxo | Abreviação | Teor em massa (%) |
|-------------|------------|-------------------|
| Palmítico   | C16:0      | 11,29             |
| Esteárico   | C18:0      | 3,54              |
| Oleico      | C18:1      | 22,45             |
| Linoleico   | C18:2      | 54,62             |
| Linolênico  | C18:3      | 8,11              |

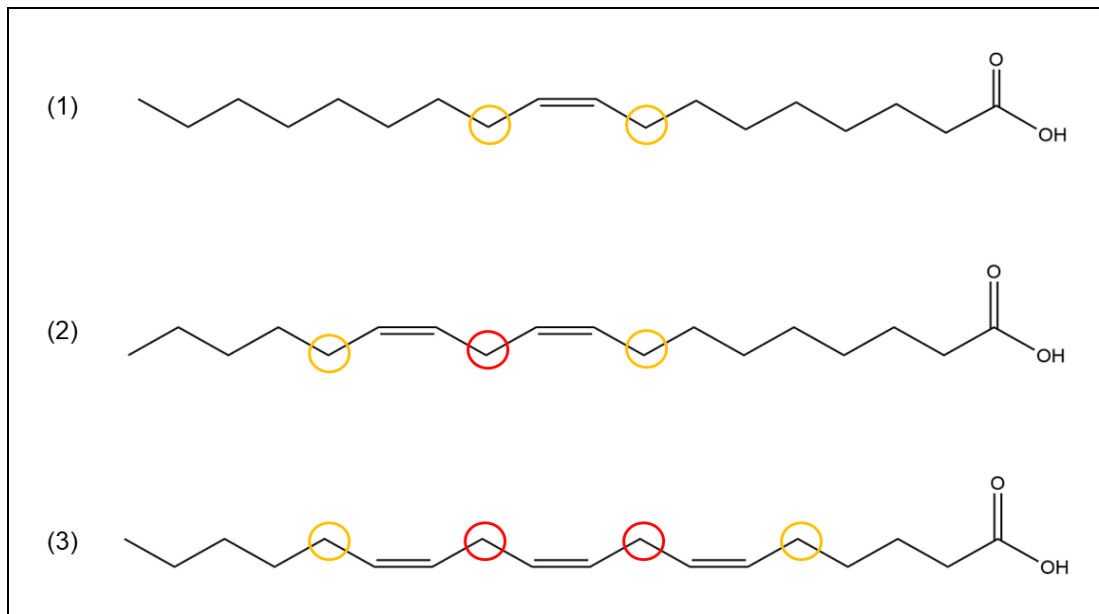
Fonte: Adaptado de FERRARI, *et al.*, (2005).

Como pode ser observado na Tabela 2 a composição de ácidos de graxos insaturados no biodiesel de soja é majoritária (85,18%), sendo 22,45% para ácido oleico, 54,62% para ácido linoleico e 8,11% para ácido linolênico.

A oxidação do biodiesel é fortemente dependente da presença, quantidade e da localização de ligações duplas nas cadeias dos compostos graxos. Os carbonos alílicos em relação a dupla ligação são os mais expostos à oxidação. Esse fator é intensificado à medida que aumenta o número de insaturações aumenta, quando há duas insaturações é gerada uma posição *bis*-alílica que expõem esse carbono ainda mais à oxidação. Na Figura 33 é apresentada as estruturas químicas dos três ácidos graxos citados anteriormente e é realçado os carbonos em posições alílicas e *bis*-alílicas.



**Figura 3** - Estrutura química dos ácidos oleico (1), linoleico (2) e linolênico (3) e posições alílicas (○) e bis-alílicas (◐).



Fonte: O autor (2022).

No caso do ácido oleico com uma ligação dupla na posição 9, os carbonos C-8 e C-11 ficam suscetíveis a oxidação. Já no ácido linoleico a presença de duas insaturações (posições 9 e 12) acaba gerando uma posição *bis*-alílica no carbono C-11 e duas posições alílicas em C-8 e C-14. Da mesma maneira ocorre para o ácido linolênico, mas, com duas posições *bis*-alílicas. Devido ao fato de que as posições *bis*-alílicas favorecem de maneira muito mais intensa a oxidação, pequenos teores de compostos graxos insaturados tem um efeito forte na velocidade de oxidação.

Freedman e Bagby (1989) apresentaram que as velocidades relativas de oxidação para oleatos de ésteres metílicos correspondem a 1, 41 para linoleatos e 98 para linolenatos. Portanto, para o biodiesel de soja (Tabela 2), o ácido linolênico mesmo com somente 8,11% irá afetar fortemente a estabilidade oxidativa do biodiesel, principalmente na rapidez da formação de radicais livres (primeira etapa).

O mecanismo de oxidação do biodiesel ocorre conforme a teoria de reação de peroxidação em cadeia, onde os produtos primários lentamente se acumulam no meio reacional e posteriormente reagem entre si de maneira rápida (YAAKOB *et al.*, 2014; KUMAR, 2016). Este processo ocorre em três etapas: iniciação, propagação e término.

Iniciação é a etapa onde há a formação de um radical livre ( $R^\bullet$ ) e esse processo ocorre de maneira lenta. O composto graxo insaturado perde um átomo de hidrogênio para alguma espécie deficiente de elétron, podendo ser: outra molécula do composto graxo, metal de transição, oxigênio em estado singleto ou água. Ou a formação pode ocorrer via fotoxidação, ou seja, por ação de raios ultravioleta ou até luz ambiente. A Equação 1 apresenta a reação do primeiro estágio (JAIN e SHARMA, 2010; KUMAR, 2017).



Na etapa de propagação o radical anteriormente formado reage com oxigênio atmosférico para formar um composto menos instável: um radical peróxido (Equação 2). Posteriormente, este radical sequestra um átomo de hidrogênio de outro composto graxo do meio, formando assim, um composto estável (hidroperóxido) e também dá origem a outro radical graxo ( $R^\bullet$ ) (Equação 3). Esse mecanismo se caracteriza pelo rápido consumo de oxigênio do meio e na formação de hidroperóxidos, que conseqüentemente alimenta a cadeia reativa até a fase de terminação (JAIN e SHARMA, 2010; KUMAR, 2017).



Para etapa de término ocorrer é necessário que haja concentração suficiente de peróxidos para que então ocorra reação entre si, como por exemplo entre radical peróxido e radical do composto graxo (Equação 4), entre radicais peróxidos (Equação 5) e até entre radicais do composto graxo (Equação 6). Tal reação dá origem a compostos complexos polares estáveis, tal como dímeros (JAIN & SHARMA, 2010; KUMAR, 2017).





Para retardar e/ou inibir o processo de oxidação pode ser utilizados compostos antioxidantes.

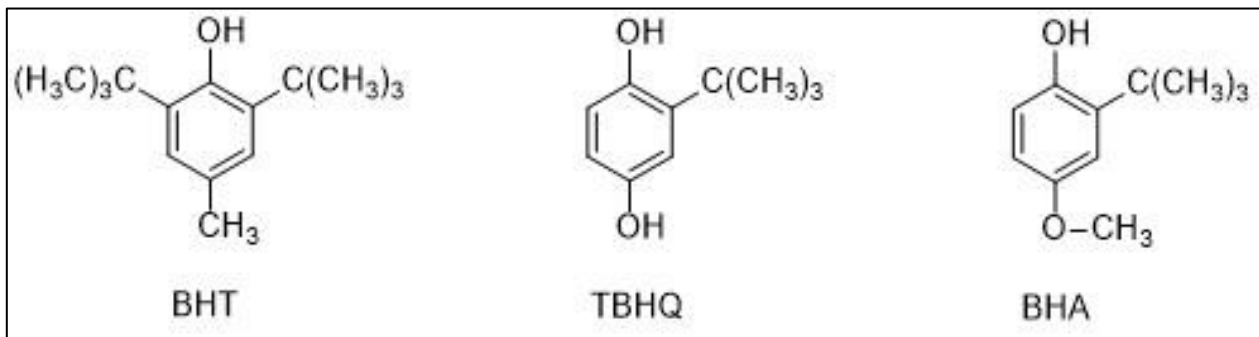
## 2.2. ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são compostos cuja finalidade é inibir ou retardar uma reação de oxidação. Eles podem ser classificados em naturais ou sintéticos, dependendo da sua rota de obtenção. Adicionalmente, podem também atuar de maneiras diferentes, atuando como complexantes de agentes oxidantes, inibindo a etapa de iniciação da reação de oxidação e/ou estabilizando radical livre.

O uso de antioxidantes abrange diversos setores, tais como alimentício, cosmético, combustíveis, farmacêutico, entre outros.

Os antioxidantes sintéticos são comumente utilizados em alimentos para garantir a qualidade, aroma, e conseqüentemente a segurança dos mesmos. São empregados compostos tais como o hidroanilsolbutilado (BHA), hidroxitoluenobutilado (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ), pyrogallol (PY) e galato de propila (PG). A Figura 4 demonstra as estruturas químicas destes antioxidantes.

**Figura 4** - Estruturas químicas dos antioxidantes hidroxitoluenobutilado (BHT), butil-hidroquinona (TBHQ) E hidroanisolbutilado (BHA).



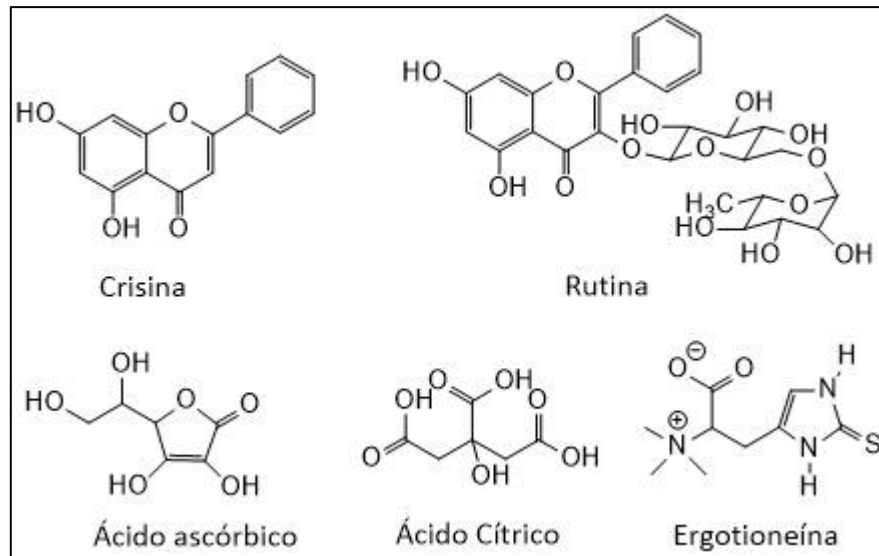
Fonte: O autor (2022)

Contudo, consumidores e a comunidade científica questionam a segurança do uso desses compostos, tal fato leva a indústria alimentícia e os cientistas a estudarem o emprego dos antioxidantes naturais.

A origem natural dos antioxidantes apresenta duas principais vantagens, a ausência da dependência do petróleo, uma vez que os antioxidantes sintéticos são derivados desta fonte; a segunda é a biodisponibilidade. Em contrapartida, comumente os sintéticos tem menor preço devido a produção em larga escala.

A comunidade científica reporta diversos estudos sobre o uso de antioxidantes naturais em alimentos e combustíveis, tais como ácido ascórbico (vitamina C), tocoferol (vitamina E), vitamina A, vitamina D, ácido cítrico, fenóis, taninos, extratos de plantas e temperos. A Figura 5 demonstra as moléculas naturais antioxidantes.

**Figura 5** - Moléculas antioxidantes naturais, crisina, rutina, ácido ascórbico, ácido cítrico e ergotioneína.



Fonte: O autor (2022).

Para inibir o processo oxidativo do biodiesel a literatura reporta diversos estudos com antioxidantes sintéticos e naturais.

### 2.2.1. Estudo do uso de antioxidantes no Biodiesel

Para estudar o potencial de proteção a oxidação de um antioxidante no biodiesel, é amplamente utilizado o Rancimat<sup>®</sup>. A literatura reporta diversos estudos do uso de antioxidantes em biodiesel. Na Tabela 3 são citados alguns desses estudos.

**Tabela 3** - Antioxidantes com suas respectivas concentrações utilizadas em biodiesel e resultados de período de indução (h) com a porcentagem de aumento.

| Antioxidante | Concentração | P.I (h) | % Aumento | Referência                    |
|--------------|--------------|---------|-----------|-------------------------------|
| TBHQ         | 2000 ppm     | 12,0    | 215,8     | Medeiros <i>et al.</i> , 2014 |
| DTBHQ        | 10000 ppm    | 14,52   | 330       | Focke <i>et al.</i> , 2012    |
| BHT          | 0,006 mol/l  | 6,20    | 89        | MAIA <i>et al.</i> , 2011     |
| TBHQ         | 0,006 mol/l  | 9,78    | 200,6     | MAIA <i>et al.</i> , 2011     |
| BHA          | 0,006 mol/l  | 8,06    | 145,73    | MAIA <i>et al.</i> , 2011     |

Fonte: O autor (2022).

Na tabela 3 pode-se observar que os antioxidantes sintéticos elevam o período de indução de forma satisfatória com concentração relativamente baixa. Contudo, a

comunidade científica busca alternativas para esses compostos, que sejam de origem natural, baixo custo e com o mesmo desempenho de proteção contra oxidação.

A Tabela 4 apresenta resultados de P.I provenientes do uso de antioxidantes naturais encontrados na literatura. O resultado do presente trabalho apresentou um desempenho intermediário.

**Tabela 4** - Resultados de período de indução da utilização de antioxidantes naturais encontrados na literatura.

| Fonte natural           | P.I (controle)<br>(h) | P.I (amostra)<br>(h) | Aumento<br>(%) | Referência                   |
|-------------------------|-----------------------|----------------------|----------------|------------------------------|
| Hortelã                 | 2,56                  | 3,90                 | 52             | SPACINO <i>et al.</i> , 2016 |
| Resíduo Cevada (RCV)    | 2,87                  | 5,8                  | 102            | BOSCHEN, 2016                |
| <i>Moranga oleífera</i> | 4,04                  | 8,18                 | 102            | VALENGA <i>et al.</i> , 2019 |
| Manjericão              | 2,73                  | 9,40                 | 244            | SPACINO <i>et al.</i> , 2016 |
| Polén de Sábura         | 2,56                  | 13,87                | 442            | COPPO <i>et al.</i> , 2014   |
| Resíduo de Candeia      | 4,35                  | 7,47                 | 71,7           | PAVANELLO 2017               |
| RCV + Ácido Cítrico     | 3,10                  | 14,67                | 373,2          | BOSCHEN <i>et al.</i> , 2019 |

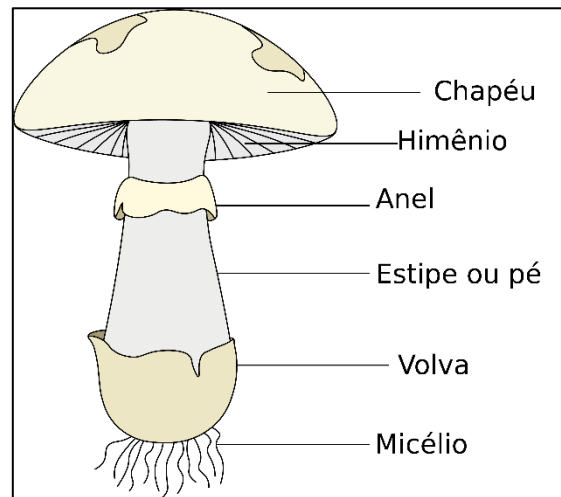
Na Tabela 4 apresentam-se os estudos com antioxidantes naturais, sendo que na maioria dos trabalhos reportados utilizam-se extratos de resíduos, folhas, frutos e cascas, dentre outros. Na relação de estudos acima, destaca-se o polén, proposta (Coppo *et al.*, 2014), com 442 % de melhoria do período de indução do biodiesel quando comparado a amostra controle, seguido do uso de extrato de manjericão (Spacino *et al.*, 2019), que melhorou 244% no período de indução do biodiesel. Também se destaca o sinergismo de antioxidantes de extratos de alecrim e orégano, proposto por Boschen *et al.*, (2019), que levou a 373 % de melhoria no período de indução do biodiesel. Os cogumelos são outra fonte natural que podem ser utilizadas para inibir a oxidação do biodiesel

### 2.3. COGUMELOS

Os cogumelos são seres vivos do Reino *Fungi* e pertencentes aos filos *Basiomycota* ou *Ascomycota*, que de modo geral são responsáveis pela decomposição de matéria orgânica morta (RAVEN *et al.*, 2007). Raven *et al.*, (2007) reportam que isso ocorre por meio da liberação de enzimas nas hifas, localizadas nos fios do micélio (Figura 7) as quais degradam o material orgânico fornecendo

nutrientes e energia ao cogumelo. Adicionalmente, auxiliam na manutenção do ecossistema devido ao seu comportamento simbiótico. Quando se alimentam deixam compostos “ativos” no substrato, que são liberados para o ecossistema/meio ambiente, sendo utilizados por outros seres vivos, assim renovando a matéria orgânica. A Figura 6 representa um cogumelo e nomeia as estruturas.

**Figura 6** - Estruturas biológicas de um cogumelo.



Fonte: INFOESCOLA (2018).

Os cogumelos comestíveis são consumidos como alimento e fonte medicinal pelos povos orientais desde a idade antiga. Até o século passado os cogumelos eram coletados na natureza, mas com o aumento da demanda na alta gastronomia e dietas livres de proteína animal, foram desenvolvidas técnicas de cultivo para a produção em escala industrial (SILVA & JORGE, 2011; DANIELA *et al.*, 2017).

Os cogumelos são conhecidos como alimentos nutracêuticos por seu alto teor de proteínas, fibras, aminoácidos, vitaminas, compostos fenólicos, minerais e baixo teor de gordura (JAYAKUMAR *et al.*, 2009; KALYONCU *et al.*, 2010). Os possíveis efeitos benéficos da ingestão dos cogumelos podem ser o aumento da imunidade, normalização dos níveis de glicose no sangue e diminuição dos níveis de colesterol (SOARES, 2007). Adicionalmente, devido a presença de vitaminas (B, C, D, E e K) ocorre a redução da formação de radicais livres no corpo humano, consequentemente diminuindo as chances de doenças oriundas do estresse oxidativo. Além das vitaminas, os fenóis e flavonoides

também atuam como compostos bioativos e antioxidantes, auxiliando no combate do estresse oxidativo, reduzindo danos ao DNA, às proteínas e aos lipídeos celulares.

Além do uso como fonte nutricional, também são utilizados medicinalmente pela cultura asiática para tratamento e prevenção de doenças como diabetes, câncer, hipertensão vascular, hipercolesterolemia, entre outras. Os responsáveis por esses efeitos benéficos são os fenóis, flavonoides e as vitaminas (AIDA *et al.*, 2009; TAVARES, 2015; YAHIA *et al.*, 2017).

A comunidade científica reporta a presença de diversos compostos bioativos tais como aminoácidos (ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina, leucina, glicina, isoleucina, treonina, serina, lisina, entre outros), vitaminas A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>, C, D e K, fenólicos (crisina, rutina, ácido caféico, ácido málico ácido furâmico, ácido sináptico entre outros), estatinas (lovastatina) e antocianinas (YIM *et al.*, 2010; STAFUSSA *et al.*, 2012; YAHIA *et al.*, 2012). A concentração e composição destes varia entre cada espécie, e pelas condições de cultivo, tais como temperatura, umidade e substrato (DUNDAR *et al.*, 2009).

Diversos pesquisadores reportam os compostos bioativos encontrados em cogumelos. Na Tabela 5 foi realizado um copilado dos estudos encontrados na literatura sobre o *Pleurotus ostreatus*.

**Tabela 5** – Estudos sobre a composição de compostos antioxidantes e teor de fenóis da *Pleurotus ostreatus*

| Referência   | Compostos  | Solvente                         | T.F  |
|--|--|----------------------------------|--|
| KOUTROTSIOS <i>et al.</i> , (2017)                       | Ácido p-hidroxi-benzoico<br>Ácido p-hidroxi-fenilacético<br>Ácido siríngico<br>Ácido Cafeico<br>Ácido Cinâmico | metanol                          | 3,32 a 7,79 mg<br>EAG 100g <sup>-1</sup> úmida   |
| DUNDAR; ACAY; YILDIZ<br>(2009)                           | Tiamina (B1)<br>Riboflavina (B2)<br>Piridoxina (B6)<br>Niacina (B3)  | Água/metanol<br>(1:1)            | -  |
| CHOWDHURY <i>et al.</i> , (2015)<br>-1LAM; OKELLO (2015) | Ácido ascórbico<br>Polifenóis  | Metanol<br>Água/metanol<br>(1:1) | 3,20 mg mL <sup>-1</sup><br>487,12 mg GAE 100g <sup>-1</sup>   |
| STAFUSSA <i>et al.</i> , (2016)                          | Fenóis<br>Flavonoides<br>Antocianinas  | Metanol                          | 1,98 mg g <sup>-1</sup><br>1,10 mg g <sup>-1</sup><br>2,54 mg 100g <sup>-1</sup>                       |
| YIM (2010)   | -<br>Fenóis  | água                             | 798,55 mg GAE 100 g <sup>-1</sup><br>5,49 mg GAE 100g <sup>-1</sup>                                    |
| JAYAKUMAR <i>et al.</i> , (2009)                         | Ácido ascórbico<br>α-tocoferol<br>β-caroteno<br>Rutina   | etanol                           | 25,0 mg 100g<br>30,3 mg 100g <sup>-1</sup><br>03,3 mg 100g <sup>-1</sup><br>31,2 mg 100g <sup>-1</sup> |



|                               |                                   |        |  |
|-------------------------------|-----------------------------------|--------|--|
| DUBOST; OU; BEELMAN<br>(2007) | Crisina<br>Fenóis<br>ergotioneína | Etanol | 40,0 mg 100g <sup>-1</sup><br>4,27 mg GAE g <sup>-1</sup><br>2,59 mg g <sup>-1</sup> |
|-------------------------------|-----------------------------------|--------|--|

FONTE: O autor (2022).

Na Tabela 5 nota-se que em todos os estudos foram encontrados compostos fenólicos nos extratos do *Pleurotus ostreatus*, contudo, observa-se diferentes resultados de teor de fenóis. Essa variação é devida as condições em que o cogumelo foi produzido, tais como: temperatura, umidade e principalmente o substrato utilizado. Ademais, as condições de extração como solvente, temperatura e agitação também influenciam nos obtidos compostos extraídos, evidenciando-se que esses fatores devem ser considerados. Diante dos dados apresentados, fica evidente que o cogumelo *Pleurotus ostreatus* apresenta capacidade antioxidante.

Os principais cogumelos comestíveis produzidos no Brasil são o *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Pleurotus ostreatus* (Cogumelo ostra), *Agaricus blazei* (Cogumelo do Sol) e *Lentinula edodes* (Shiitake). A Associação Nacional de Produtores de Cogumelos (ANPC) estima que a produção nacional em 2019 foi de aproximadamente 12 mil toneladas de cogumelos comestíveis (ANPC, 2019).

Dentre os estudos realizados em biodiesel, a cinética do processo oxidativo é um dos mais importantes para entender o mecanismo de ação do antioxidante aplicado ao biodiesel.

#### 2.4. CINÉTICA QUÍMICA

A cinética química estuda a velocidade de uma reação química, ou seja, a taxa com que são consumidos os reagentes e formados produtos, e a dinâmica de interação dos reagentes. Diversos fatores podem influenciar em uma reação, entre eles a concentração dos reagentes, a temperatura, o estado físico dos reagentes e catalisadores.

Tem-se que a velocidade de uma reação pode ser descrita como consumo dos reagentes ou aumento da concentração dos produtos em um determinado instante, como mostra a equação (7) (ATKINS; PAULA, 2006).

$$v = -\frac{d[R]}{dt} \text{ ou } \frac{d[P]}{dt} \quad \text{Equação (7)}$$

No caso da reação de oxidação do biodiesel não é possível fazer uma medição direta desses parâmetros, então avalia-se a condutividade elétrica no ensaio de oxidação acelerada, pois esta é diretamente proporcional ao aumento da concentração dos produtos (BORSATO, 2010; GALLINA, 2011; BOSCHEN, 2016).

As equações cinéticas de ordem de reação fornecem informações sobre a ordem da reação e a constante de velocidade. As ordens de reação mais comuns são zero, primeira e segunda, representadas respectivamente pelas equações (8), (9) e (10) (ATKINS; PAULA, 2006).

$$A = A_0 - kt \quad \text{Equação (8)}$$

$$\ln[A] = \ln[A_0] - kt \quad \text{Equação (9)}$$

$$\frac{1}{A} = \frac{1}{A_0} - kt \quad \text{Equação (10)}$$

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

- Analisar o cogumelo *Pleutorus ostreatus* como antioxidante em biodiesel.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o cogumelo *Pleurotus ostreatus* como antioxidante em biodiesel empregando por três diferentes processos de extração: aquosa ácida, orgânica neutra e orgânica básica;
- Realizar o delineamento experimental para os três diferentes processos de extração dos extratos (ácido, básico e neutro) do *Pleutorus ostreatus* e das misturas desses processos;
- Avaliar físico quimicamente a mistura dos extratos do cogumelo *Pleurotus ostreatus* com vitamina E e ácido cítrico cineticamente e termodinamicamente.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. COGUMELO *Pleurotus ostreatus*

O cogumelo *Pleurotus ostreatus*, também conhecido como cogumelo ostra, Hiratake ou Shimeji, foi coletado (desidratado e triturado sem granulometria definida) no Laboratório de Bioprocessos de Cogumelos, do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, Campus Cedeteg, em Guarapuava-PR. A Figura 7 contém fotos do cogumelo, em visão superior e lateral.

**Figura 7** - Cogumelo ostra (*Pleurotus ostreatus*) em visão superior (A) e lateral (B).



Fonte: O autor (2022).

Para maximizar o processo de extração foi realizada a moagem dos cogumelos em um liquidificador comercial durante 10 minutos, uma vez que quanto maior a superfície de contato do substrato com o solvente, mais rápida e eficaz é a extração (KITZBERGER *et al.*, 2007; SILVA & JORGE, 2011).

Os cogumelos moídos foram separados em cinco peneiras granulométricas da marca Bertel. Cada peneira empregada possui diâmetro de malha específico, sendo 18, 35, 60 e 120 mesh, e o fundo (partículas menores que 0,125 mm). Com auxílio de um agitador de peneiras (Bertel) foram separados os diferentes tamanhos de partículas.

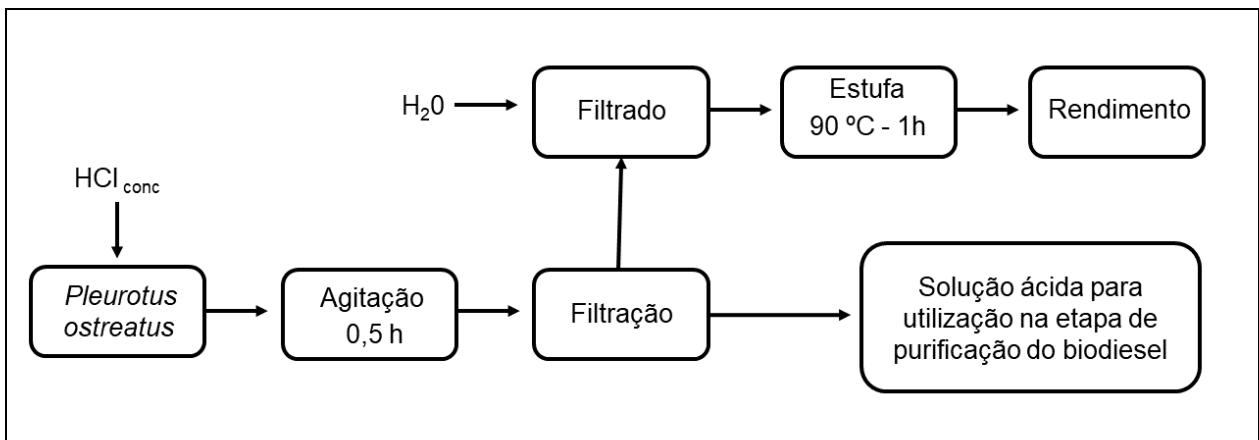
Após, foram coletadas somente a fração retida na peneira de 120 mesh para uso nas extrações para maximizar o rendimento.

#### 4.1.1. Preparação e aplicação dos extratos de *Pleurotus ostreatus*

Para estudar o potencial antioxidante dos extratos de cogumelo *Pleurotus ostreatus* em biodiesel foram utilizados três diferentes processos de extração: ácida aquosa (pH = 1), orgânica neutra (pH = 7) e orgânica básica (pH = 14). Todas as extrações foram realizadas em temperatura de 23 °C e pressão atmosférica de 685 mmHg (BOSCHEN, 2016).

Para realizar a extração ácida aquosa foi utilizado ácido clorídrico concentrado em contato direto com o cogumelo moído por um período de 30 minutos. Em seguida, foi realizada a filtragem para arrastar os compostos disponíveis no filtrado. Assim, foi obtida uma solução ácida fortificada com possíveis moléculas antioxidantes para ser utilizada na etapa de purificação do biodiesel (ANDREO & JORGE, 2006; BOSCHEN, 2016; MOLINARES, 2019). A Figura 8 apresenta o fluxograma desse processo.

**Figura 8** - Fluxograma do processo da extração ácida aquosa do *Pleurotus ostreatus*.

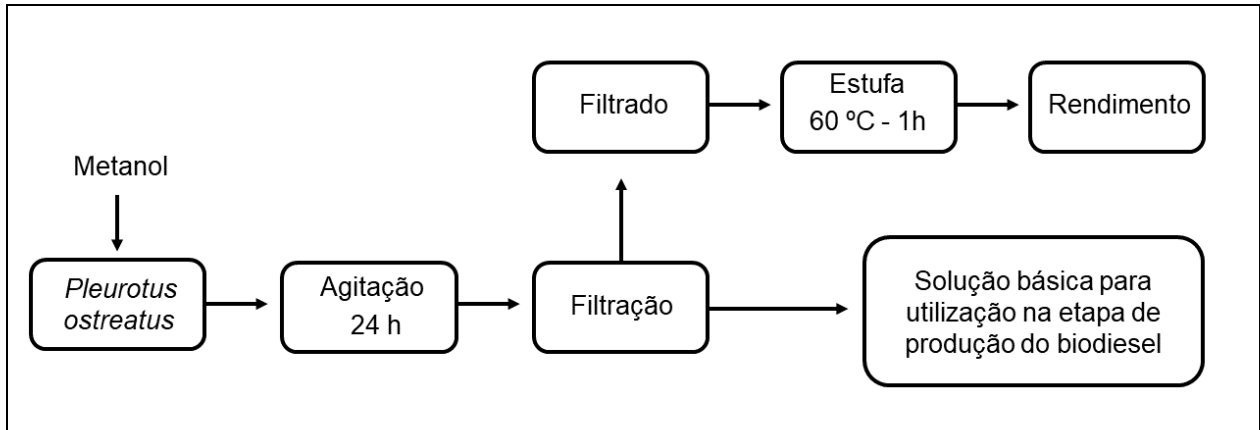


Fonte: O autor (2022).

Para a extração orgânica neutra, o cogumelo moído foi adicionado diretamente em metanol e deixado em agitação durante 24 h. Após, foi realizada a filtragem para obter uma solução de metanol fortificado com possíveis compostos antioxidantes. Essa

solução foi utilizada no processo de produção do biodiesel (ANDREO & JORGE, 2006; BOSCHEN, 2016). A Figura 9 apresenta o fluxograma desse processo.

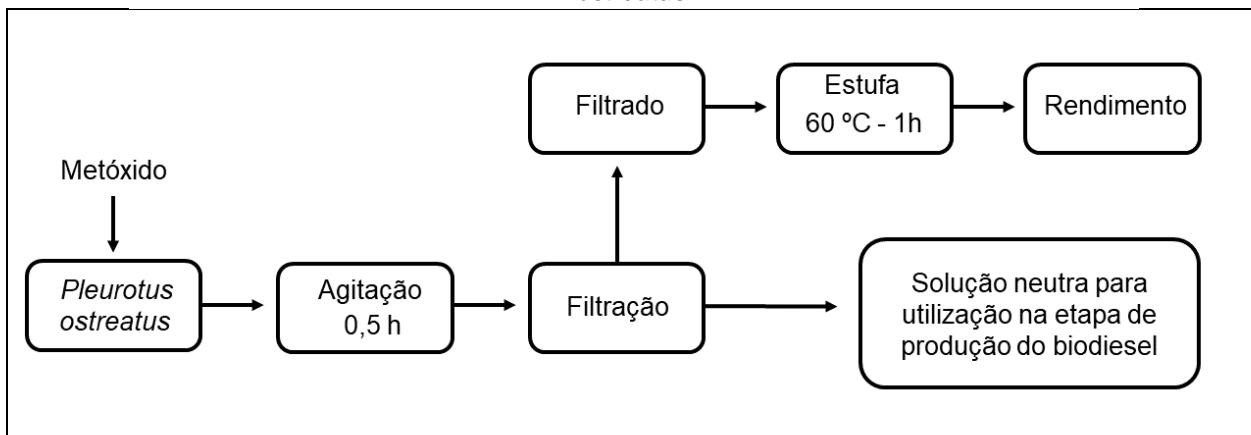
**Figura 9** - Fluxograma do processo da extração orgânica neutra do *Pleurotus ostreatus*.



Fonte: O autor (2022).

Por último, para a extração orgânica básica adicionou-se metanol e hidróxido de potássio para se obter o metóxido de potássio, e em seguida adicionou-se o cogumelo moído. Feito isso, deixou-se em agitação durante 30 minutos, e logo após foi realizada a filtração. A solução final de metóxido de potássio fortificada com possíveis compostos antioxidantes foi utilizada na etapa de produção do biodiesel (ANDREO & JORGE, 2006; BOSCHEN, 2016; MOLINARES, 2019). A Figura 10 apresenta o fluxograma desse processo.

**Figura 10** - Fluxograma do processo de extração orgânica básica do *Pleurotus ostreatus*.



Fonte: O autor (2022).

As concentrações dos extratos dependem da quantidade de cogumelo utilizado no processo, sendo que para as três vias foi utilizada a mesma quantidade.

Ademais, foi realizada a determinação do teor de fenóis totais dos extratos do *Pleurotus ostreatus* por meio do método Folin-Ciocalteu, utilizando a metodologia de Kumazawa e colaboradores com algumas adaptações (leitura em 765 nm, solução Folin-Ciocalteu 0,6 N e solução Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10%). O equipamento utilizado foi o espectrofotômetro Gehaka VIS-340G. Foi realizada a curva de calibração com ácido gálico P.A.-A.C.S. (Dinâmica) nas concentrações de 2, 5, 10, 20 e 30 ppm. Os resultados foram obtidos pela equação da reta da curva de calibração e foram expressos em equivalente de ácido gálico (mg EAG g<sup>-1</sup> amostra seca).

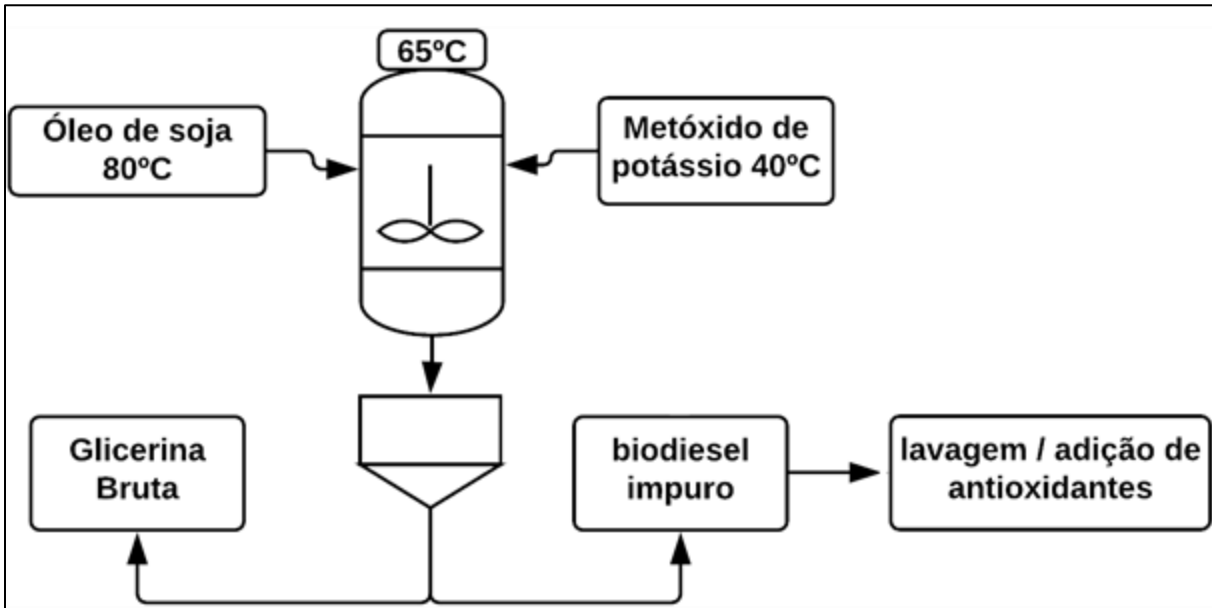
#### 4.2. PRODUÇÃO DO BIODIESEL

A produção do biodiesel foi realizada no laboratório do AMBIOTEC, Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, Campus CEDETEG, Guarapuava – PR.

Para obtenção do biodiesel foi utilizada a reação de transesterificação por rota básica. Neste processo o óleo de soja comercial foi aquecido a uma temperatura próxima a 80°C, sob agitação magnética. Em outro recipiente, dissolveu-se hidróxido de potássio (1,5% da quantidade de óleo, ou seja, 1,5 g de catalisador para 100 mL de óleo) em metanol anidro (30% da quantidade de óleo utilizada), elevando a temperatura do sistema de álcool anidro + catalisador para a 40 °C. Após, transferiu-se a mistura de uma vez só para o sistema de óleo aquecido, mantendo-se uma temperatura de 65 °C, sob agitação magnética por 1 hora (VIOMAR, 2013).

Terminada a reação de transesterificação, os produtos obtidos foram transferidos para um funil de decantação. Deixou-se em repouso por 24 h para separação da mistura de biodiesel e glicerol. A Figura 11 mostra o processo de produção do biodiesel em forma de fluxograma.

**Figura 11** - Fluxograma do processo de obtenção do biodiesel.



Fonte: O autor (2022).

Após a separação do biodiesel, foi utilizada a metodologia apresentada por Geris e colaboradores (2007) para retirar impurezas e coprodutos da reação de transesterificação, tais como, metanol, catalisador, ácidos graxos livres e água.

O processo de lavagem é composto por três principais etapas: a primeira a lavagem com solução de ácido clorídrico 0,5% (v v<sup>-1</sup>); a segunda lavagem com solução saturada de cloreto de sódio (360 g L<sup>-1</sup>); e, por último, lavagem com água destilada. A proporção utilizada em cada lavagem é de 50% do volume de óleo vegetal (GERIS *et al.*, 2007). Adicionalmente, cada etapa de lavagem é dividida em cinco lavagens, ou seja, se foi utilizado 50 mL de solução de ácido clorídrico, o biodiesel foi lavado cinco vezes com alíquotas de 10 mL.

Por último, é necessário reduzir o teor de água presente no biocombustível para inibir a formação de ácidos carboxílicos. Para tal processo, o biodiesel foi aquecido à temperatura constante de 90°C durante 30 minutos sob agitação magnética.

Para a obtenção dos biodieseis aditivados com *Pleurotus ostreatus* foram utilizadas as soluções descritas no item 4.1.1, onde a solução da extração ácida aquosa foi utilizada na etapa de purificação, e as soluções provenientes das extrações orgânica neutra e orgânica básica na etapa de produção. Portanto, foram produzidos 7



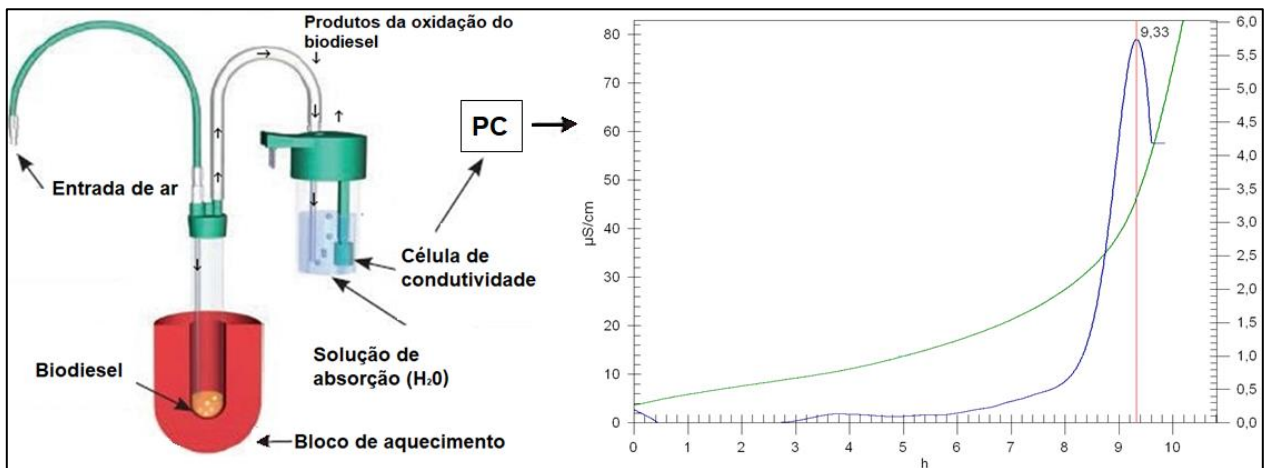
biocombustíveis, que foram utilizados no delineamento experimental descrito no item 4.3.1.

#### 4.3. OXIDAÇÃO ACELERADA

Para mensurar a estabilidade oxidativa do biodiesel foi utilizado o equipamento 873 Biodiesel Rancimat® (METROHM, 2009). O método de oxidação acelerada (EN 14112) é muito empregado para a avaliação da oxidação de combustíveis e óleos vegetais, sobretudo para o biodiesel.

O equipamento insufla ar de forma contínua ( $10 \pm 1 \text{ L h}^{-1}$ ) em uma amostra de biodiesel à temperatura constante de  $110 \text{ }^\circ\text{C}$ . Dessa forma, a oxidação é acelerada devido a presença de ar juntamente com alta temperatura. No decorrer do tempo, a oxidação dos ésteres se intensifica e são gerados ácidos orgânicos voláteis, os quais são transportados para um compartimento contendo água destilada e dois eletrodos de aço que medem a condutividade elétrica em  $\mu\text{S cm}^{-1}$ . A Figura 12 esquematiza o equipamento utilizado no procedimento.

**Figura 12** - Esquema do funcionamento do equipamento Rancimat®.



FONTE: Adaptado de [www.azom.com](http://www.azom.com)

A condutividade elétrica da água presente no compartimento de captação de ar é medida a cada 30 segundos. Ao final do ensaio o software do equipamento gera um gráfico da condutividade elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) versus tempo (h) representada pela curva

verde no gráfico da Figura 13. Posteriormente é aplicada a segunda derivada (linha azul) na curva do experimento, sendo o ponto de inflexão (linha vermelha) dessa função o valor do período de indução.

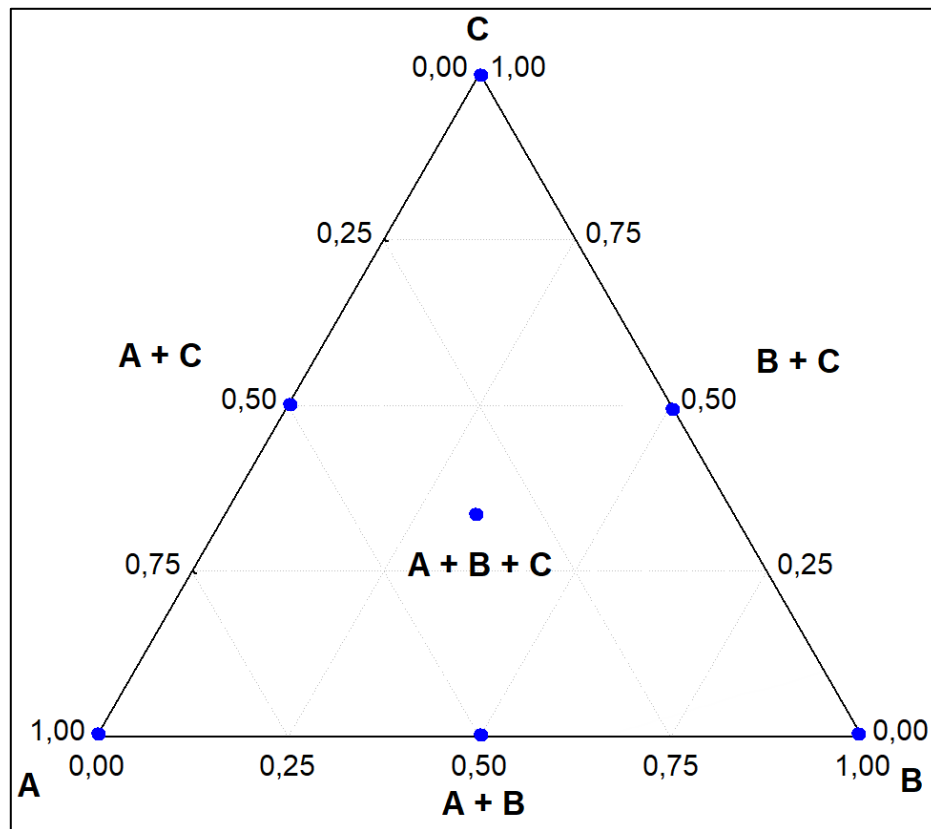
O período de indução representa o momento em que há um aumento brusco na condutividade elétrica, onde a partir dessa etapa o biodiesel começa a perder drasticamente as suas propriedades físico-químicas.

#### 4.3.1. Delineamento experimental para avaliar o potencial antioxidantes dos diferentes extratos do *Pleurotus ostreatus*

Para investigar o potencial antioxidante dos extratos de cogumelo *Pleurotus ostreatus* adicionados ao biodiesel de soja foi empregado o delineamento experimental simplex centroide. Essa ferramenta estatística baseia-se na mistura de componentes por proporção, onde sempre a soma dos componentes da mistura estudada tem que ser igual a 1. Utilizou-se o modelo cúbico especial por apresentar diversas vantagens, tais como, economia de tempo, reagentes, mão de obra e experimentos. Adicionalmente, com apenas um experimento na região interna do triângulo é possível obter superfície de resposta satisfatória.

A Figura 13 apresenta o diagrama (triângulo) formado pelas misturas de 3 componentes no modelo cúbico especial, o qual se define em 7 experimentos. Os vértices dessa figura geométrica representam os ensaios dos componentes estudados de maneira individual, e nas arestas as misturas binárias. Já o ponto central é a mistura das três variáveis na mesma proporção.

**Figura 13** - Diagrama do delineamento experimental simplex centroide e em azul as proporções das misturas realizadas nesse estudo.



Fonte: Adaptado de [www.azom.com](http://www.azom.com)

Na Figura 14, a letra A representa o biodiesel da extração aquosa ácida, B da extração orgânica neutra e C da extração orgânica básica. Como variável resposta (Y) foi escolhido o período de indução. Esses resultados foram obtidos pelo método de oxidação acelerada descrita no item 4.3. As misturas fornecidas pelo simplex centroide foram estudadas em três temperaturas distintas: 100, 110 e 120 °C.

As concentrações utilizadas para os extratos aquoso ácido, orgânico neutro e orgânico básico foram as mesmas, sendo elas 1,66, 2,5, e 5,0 g L<sup>-1</sup>. A Tabela 6 apresenta os experimentos realizados com as respectivas combinações entre os diferentes processos de extração e as concentrações utilizadas nas proporções de 0, 33,33, 50 e 100%.

**Tabela 6** – Experimentos do delineamento simplex centróide para os diferentes processos de extração no cogumelo *Pleurotus ostreatus* e as suas respectivas misturas.

| Experimentos   | Variáveis codificadas |                |                |      |
|--|-----------------------|----------------|----------------|------|
|  | X <sub>1</sub>        | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> |      |
| 1  | 1                     | 0              | 0              |      |
| 2  | 0                     | 1              | 0              |      |
| 3  | 0                     | 0              | 1              |      |
| 4  | ½                     | ½              | 0              |      |
| 5  | ½                     | 0              | ½              |      |
| 6  | 0                     | ½              | ½              |      |
| 7  | 1/3                   | 1/3            | 1/3            |      |
| 8  | 1/3                   | 1/3            | 1/3            |      |
| 9  | 1/3                   | 1/3            | 1/3            |      |
| Variáveis Independentes  | Níveis Codificados    |                |                |      |
|  | 0                     | 1              | ½              | 1/3  |
| x <sub>1</sub> = Extrato aquoso ácido 5,0 g L <sup>-1</sup>    | 0                     | 5              | 2,5            | 1,67 |
| x <sub>2</sub> = Extrato orgânico neutro 5,0 g L <sup>-1</sup> | 0                     | 5              | 2,5            | 1,67 |
| x <sub>3</sub> = Extrato orgânico básico 5,0 g L <sup>-1</sup> | 0                     | 5              | 2,5            | 1,67 |

FONTE: O autor (2022).

#### 4.3.2. Delineamento experimental para avaliar o extrato ácido do *Pleurotus ostreatus* com antioxidantes naturais

Para investigar um possível sinergismo entre os antioxidantes do *Pleurotus ostreatus* (extração aquosa ácida) com o ácido cítrico e vitamina E, foram realizados cinco simplex centróides nas temperaturas de 100, 110, 120, 130 e 140 °C. As concentrações utilizadas foram 5 g L<sup>-1</sup> para *Pleurotus ostreatus* (x<sub>1</sub>), 300 ppm para ácido cítrico (x<sub>2</sub>) e 150 ppm para vitamina E (x<sub>3</sub>). O vetor resposta (Y) foi o período de indução (h) (Tabela 7).

**Tabela 7** - Experimentos do delineamento simplex centróide para o extrato ácido do *Pleurotus ostreatus*, vitamina E e ácido cítrico.

| Experimentos | Variáveis codificadas |                |                |
|--------------|-----------------------|----------------|----------------|
|              | x <sub>1</sub>        | x <sub>2</sub> | x <sub>3</sub> |
| 1            | 1                     | 0              | 0              |
| 2            | 0                     | 1              | 0              |
| 3            | 0                     | 0              | 1              |
| 4            | ½                     | ½              | 0              |
| 5            | ½                     | 0              | ½              |
| 6            | 0                     | ½              | ½              |
| 7            | 1/3                   | 1/3            | 1/3            |
| 8            | 1/3                   | 1/3            | 1/3            |
| 9            | 1/3                   | 1/3            | 1/3            |

| Variáveis Independentes                                     | Níveis Codificados |     |     |      |
|---|--------------------|-----|-----|------|
|   | 0                  | 1   | ½   | 1/3  |
| x <sub>1</sub> = Extrato aquoso ácido 5,0 g L <sup>-1</sup> | 0                  | 5   | 2,5 | 1,67 |
| x <sub>2</sub> = Ácido cítrico (ppm)                        | 0                  | 300 | 150 | 100  |
| x <sub>3</sub> = Vitamina E (ppm)                           | 0                  | 150 | 75  | 50   |

FONTE: O autor (2022).

#### 4.4. ESTUDO CINÉTICO

Para estudar a cinética química do processo de oxidação do biodiesel utilizou-se um método indireto, onde a concentração dos produtos foi considerada como a condutividade elétrica medida no compartimento de água do equipamento Rancimat®, pois a reação resulta em ácidos voláteis que são capturados pelo compartimento e estão diretamente ligados ou resultado da medida.

O período de indução (PI) foi avaliado em cinco temperaturas (100, 110, 120, 130 e 140 °C), pois essa variação possibilita a aplicação de equações cinéticas. Primeiro determinou-se a ordem da reação, e posteriormente calculou-se parâmetros como constante de velocidade (k), fator pré-exponencial (A) e energia de ativação (E<sub>a</sub>).

Para a determinação da ordem de reação do biodiesel B100 e dos biodieseis aditivados com antioxidantes, foram modificadas as equações (8), (9) e (10), se obtendo as (11), (12), e (13), respectivamente (GALLINA, 2011; BOSCHEN, 2016).

$$\Lambda = \Lambda_0 - kt$$

Equação (11)

$$\ln[\Lambda] = \ln[\Lambda_0] - kt \quad \text{Equação (12)}$$

$$\frac{1}{\Lambda} = \frac{1}{\Lambda_0} - kt \quad \text{Equação (13)}$$

Plotou-se gráficos de condutividade elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) *versus* tempo (h) para cada ordem de reação, sendo a constante de velocidade (k) o coeficiente angular achado por regressão linear. Considerou-se apenas os dados após o PI, pois é onde se inicia a etapa de propagação da reação de oxidação.

Para a obtenção dos parâmetros energia de ativação ( $E_a$ ) e fator pré-exponencial (A) foram plotados gráficos de  $\ln(k) \times T^{-1}$ , onde aplicou-se as equações (14) e (15) sendo o coeficiente angular igual a  $(-E_a R^{-1})$  e o linear ( $\ln A$ ).

$$\ln\left(\frac{k_2}{k_1}\right) = \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right) \quad \text{Equação (14)}$$

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad \text{Equação (15)}$$

Sendo:

$\Lambda$ = condutividade elétrica final ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ );

$\Lambda_0$ = condutividade elétrica inicial ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ );

k= constante de velocidade ( $\text{h}^{-1}$ );

t= tempo (h);

$k_1$ = constante de velocidade temperatura  $T_1$  ( $\text{h}^{-1}$ );

$k_2$ = constante de velocidade temperatura  $T_2$  ( $\text{h}^{-1}$ );

$E_a$ = Energia de ativação ( $\text{kJ mol}^{-1}$ );

R= Constante dos gases =  $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ;

T = Temperatura (K);

A= Fator pré-exponencial ( $\text{h}^{-1}$ ).

#### 4.4.1. Tempo de estocagem do biodiesel

É possível mensurar o tempo de validade do biodiesel em temperatura ambiente por meio de estudo do período de indução em diferentes temperaturas. Para tal, foi estudado o período de indução nas temperaturas de 100, 110, 120, 130 e 140 °C. O tempo de estocagem foi mensurado pela extrapolação da reta obtida pela regressão linear dos resultados de tempo de indução *versus* temperatura. Foram escolhidas as temperaturas médias do Sul (20 °C) e Norte (35°C) do Brasil.

#### 4.5. ESTUDO DOS PARÂMETROS TERMODINÂMICOS

Foram obtidos três parâmetros termodinâmicos para o estudo do processo de oxidação do biodiesel, sendo eles as variações de entalpia, entropia e energia de Gibbs no estado de ativação ( $\Delta H^\ddagger$ ,  $\Delta S^\ddagger$  e  $\Delta G^\ddagger$ , respectivamente). Utilizou-se a Equação de Eyring (16) derivada para a teoria do complexo ativado (EYRING, 1935) para o cálculo das duas primeiras e a equação fundamental da termodinâmica (17) para a terceira.

$$\ln \left( \frac{k}{T} \right) = \ln \left( \frac{k'}{h} \right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{R} \frac{1}{T} \quad \text{Equação (16)}$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad \text{Equação (17)}$$

Onde:

$k$  = constante de velocidade =  $\text{h}^{-1}$ ;

$T$  = temperatura (K);

$k'$  = constante de Boltzmann =  $1,38 \cdot 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$ ;

$\hbar$  = constante de Planck =  $6,63 \cdot 10^{-34} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-1}$ ;

$\Delta S^\ddagger$  = variação de entropia no estado ativado =  $\text{kJ mol}^{-1}$ ;

$\Delta H^\ddagger$  = variação de entalpia no estado ativado =  $\text{kJ mol}^{-1}$ ;

$\Delta G^\ddagger$  = variação de energia de Gibbs no estado ativado =  $\text{kJ mol}^{-1}$ ;

$R$  = Constante de Rydberg =  $1,097 \cdot 10^7 \text{ m}^{-1}$ .

## 4.6. MÉTODOS ANALÍTICOS

### 4.6.1. Caracterização do *Pleurotus ostreatus* e do Biodiesel

Utilizou-se as seguintes técnicas para a caracterização:

- a) Espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), em equipamento de marca Perkin Elmer®, modelo Frontier, com módulo de aquisição por reflectância total atenuada (ATR), 4 acumulações e resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e região de  $4000$  a  $650\text{ cm}^{-1}$ ;
- b) Termogravimetria TG/DSC, equipamento da marca Perkin Elmer®, modelo STA 6000. Para as amostras de *Pleurotus ostreatus in natura*, empregou-se 5 mg da amostra em cadinho de alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), rampa de aquecimento de 25 a  $600\text{ }^\circ\text{C}$  com taxa de  $5\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , atmosfera de nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) e ar sintético e fluxo de  $20\text{ mL min}^{-1}$ . Para o biodiesel, alocou-se 2 mg de amostra em cadinho de platina e rampa de aquecimento de 30 a  $500\text{ }^\circ\text{C}$ , repetindo-se os outros parâmetros;
- c) Cromatografia gasosa com espectrometria de massas acoplada (CG-EM). Para o extrato orgânico neutro do *Pleurotus ostreatus* utilizou-se uma alíquota de cerca de 5 mL e a mesma foi evaporada até secura sob fluxo de nitrogênio, sendo o resíduo derivatizado com reagente de silanização (N, Obistrifluoroacetamida e BSTFA) e analisado em equipamento marca Shimadzu, para o extrato orgânico neutro modelo GCMS-QP2010S no Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Paulo (IPT) e para extrato orgânico básico modelo GCMS-QP2020 na central de análises da Universidade de São Paulo (CA-USP). A coluna utilizada foi a DB-5MS ( $30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$ ). O volume de injeção foi de  $1\text{ }\mu\text{L}$ . Foi usado gás hélio como carreador a fluxo constante de  $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , a temperatura do injetor de  $270\text{ }^\circ\text{C}$  (modo Split 1:20), temperatura inicial em  $40\text{ }^\circ\text{C}$  crescente a cada minuto em  $5\text{ }^\circ\text{C}$  até  $150\text{ }^\circ\text{C}$ , mantendo-se nessa temperatura por 55 minutos. No detector de massas a temperatura da câmara de ionização foi de  $230\text{ }^\circ\text{C}$ , foi utilizado o sistema de detecção EM no modo “scan” operando na faixa de razão massa/carga de 30 – 600 (m/z).



A caracterização do extrato aquoso ácido e orgânico básico do *Pleurotus ostreatus* foi realizada em cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (Shimadzu GCMS-QP2020) na central de análises da USP. Foi utilizada a fonte de ionização de elétrons (1.18kV) equipado com coluna capilar DBWAX com 30 m de comprimento, 0,250 mm de diâmetro interno, 0,25 µm espessura do filme. As condições de análise foram: Injetor = 230 °C, Detector = 260 °C, programação = 60 a 260 °C com razão de 10 °C min<sup>-1</sup>, Split 1:5, pressão do gás Hélio 5.0 foi de 16,2 psi e fluxo total de 13,8 mL min<sup>-1</sup> e a injeção foi feita manualmente (1 µL). No detector de massas a temperatura da câmara de ionização foi de 230 °C, foi utilizado o sistema de detecção EM no modo “scan” operando na faixa de razão massa/carga (m/z) de 35 - 350.

Já para o biodiesel foi utilizado equipamento CG-Shimadzu-GC2010-plus acoplado a um espectrômetro de massa MS-QP2010-Ultra (Shimadzu). A coluna empregada foi modelo RT-2560 (Restek), com 100 metros de comprimento, diâmetro de 0,25 mm e 0,25 µm de espessura de filme. A injeção da amostra foi realizada manualmente. Iniciou-se à temperatura de 190 °C aumentando à taxa de 1,5 °C min<sup>-1</sup>. O gás utilizado foi Hélio 5.0, com fluxo total de 18,7 mL min<sup>-1</sup> e 0,31 mL min<sup>-1</sup> de fluxo de coluna. Preparou-se a amostra com 50 mg de biodiesel, 500 µL de padrão interno C23 (Sigma-Aldrich) e 500 µL de n-heptano (Vetec).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

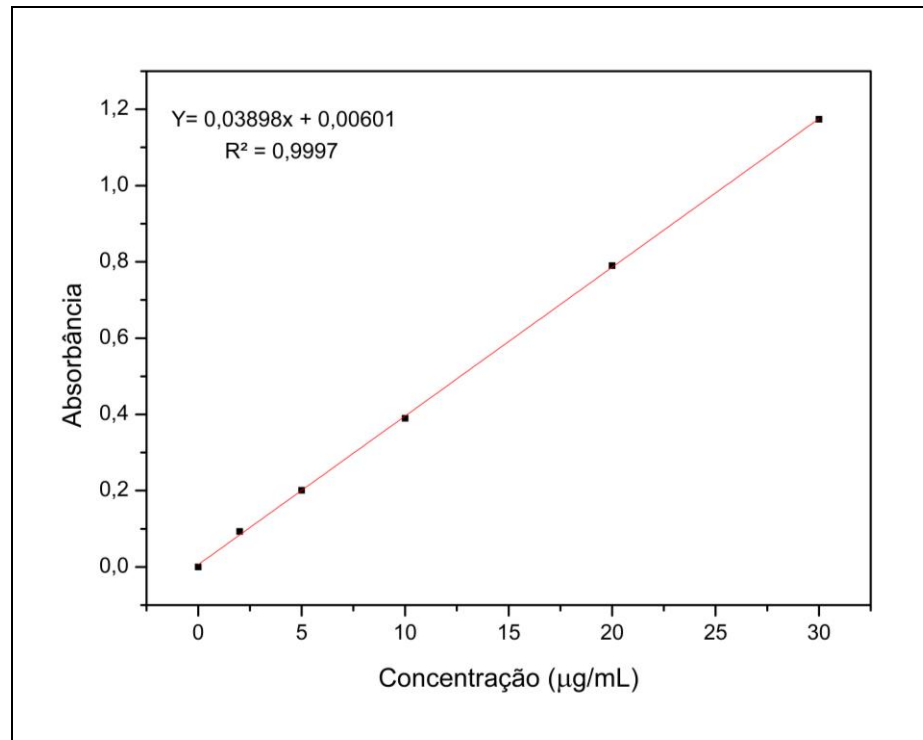
### 5.1. DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO *Pleurotus ostreatus*

Os rendimentos das extrações foram calculados utilizando a massa inicial e final do processo. A extração aquosa ácida apresentou rendimento de 31,9%, seguido da extração orgânica básica de 17,7% e orgânica neutra 9,9%. O maior rendimento da extração aquosa ácida sugere que os compostos presentes no *Pleurotus ostreatus* possuem maior solubilidade em água.

Adicionalmente, em meio ácido ocorre a protonação dos compostos hidrofóbicos, dessa forma aumentando a solubilidade e arrastando-os na extração (BOSCHEN, 2016). Vargas-Sánchez e colaboradores (2018) encontraram rendimento de extração semelhante para *Pleurotus ostreatus* (34,2%) com extrato aquoso. Entretanto, Torres-Martínez e colaboradores (2021) encontraram rendimento de 47% para extração aquosa e 34% para extração etanólica. Assim sendo, os pesquisadores constataram que com o aumento da polaridade do solvente há elevação no rendimento da extração. Portanto, as extrações orgânicas (neutra e básica) apresentaram menor rendimento devido a polaridade do metanol ser inferior à da água.

De maneira semelhante Sudha e colaboradores (2012) verificaram que a polaridade do solvente influenciou os valores de teor de fenóis totais em extratos, onde em extração aquosa encontraram valores mais elevados do que em extração orgânica (metanol).

O teor de fenóis totais para os três extratos do *Pleurotus ostreatus* foi calculado a partir da equação da reta da curva de calibração, a qual apresentou ótimo coeficiente de correlação  $R^2=0,9997$  (Figura 14).

**Figura 14** - Curva de calibração com ácido gálico.

Fonte: O autor (2022).

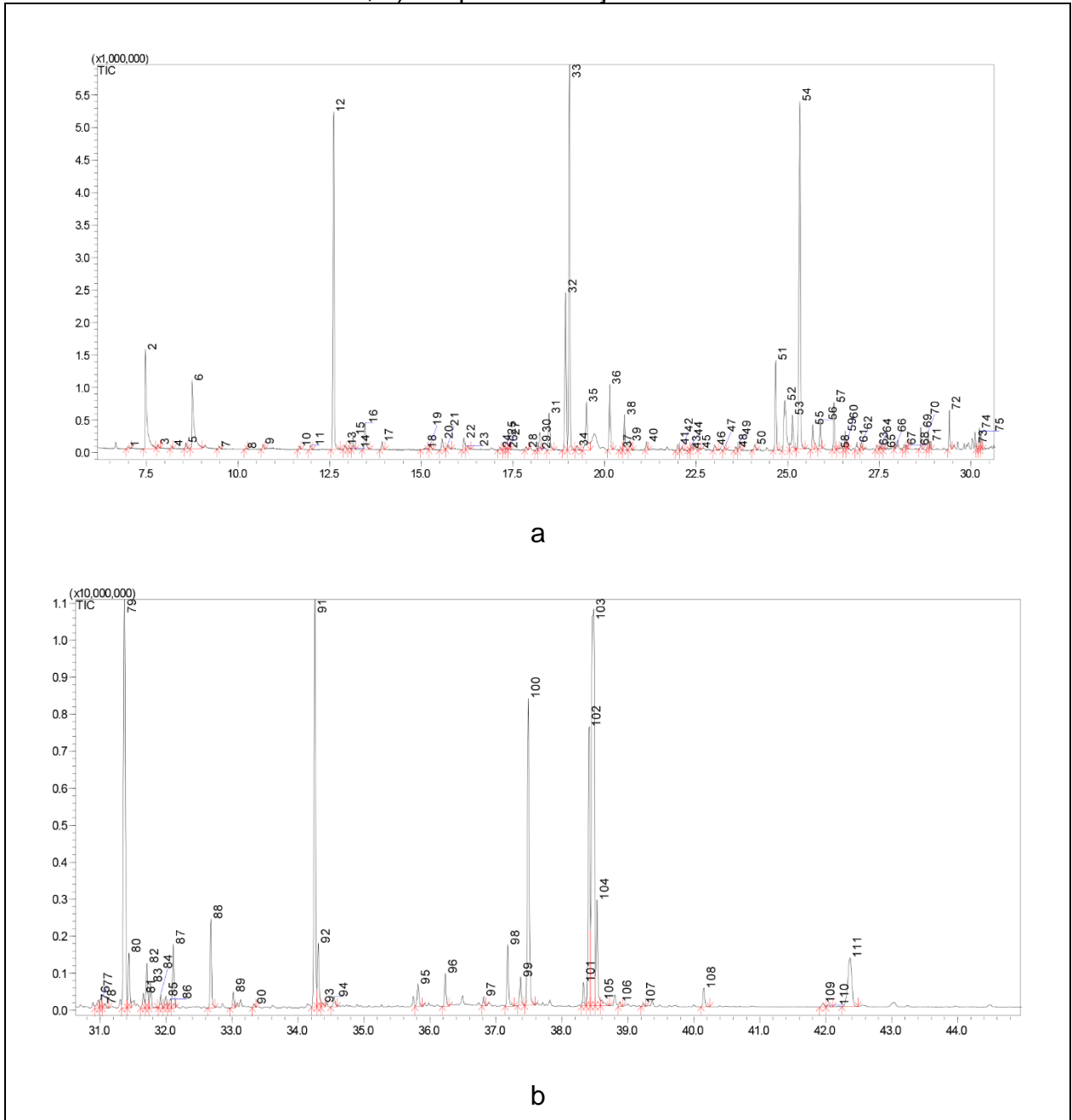
O extrato aquoso ácido apresentou teor de fenóis totais de  $14,021 \pm 0,69$  mg EAG  $g^{-1}$ , orgânico básico de  $6,042 \pm 0,24$  mg EAG  $g^{-1}$ , e orgânico neutro de  $1,811 \pm 0,18$  mg EAG  $g^{-1}$ . Os resultados encontrados para o extrato aquoso ácido ( $31,7$  mg EAG  $g^{-1}$ ) são inferiores aos de Torres-Martínez e colaboradores (2021) ( $31,7$  mg EAG  $g^{-1}$ ) e superiores ( $11,36$  mg EAG  $g^{-1}$ ) aos de González-Palma e colaboradores (2016). Koutrotsios e colaboradores (2017) encontraram  $0,07$  mg EAG  $g^{-1}$  (massa úmida) em extração metanólica.

A diferença entre os dados desta pesquisa e os resultados encontrados na literatura pode ser influenciada por vários fatores, tais como: substrato utilizado na produção do cogumelo, tempo de maturação, a parte utilizada (micélio ou corpo) e condições de extração (solvente, temperatura e tempo).

Koutrotsios e colaboradores (2017) identificaram diversos ácidos fenólicos em diferentes cepas do *Pleurotus ostreatus*, tais como: ácido benzoico, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido siríngico, entre outros.

Para caracterizar a composição química dos extratos do *Pleurotus ostreatus* foi realizada a CG-EM. A Figura 15 apresenta os cromatogramas da análise.

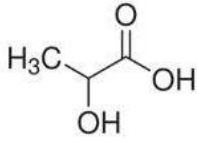
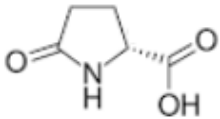
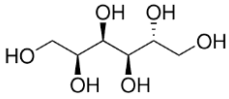

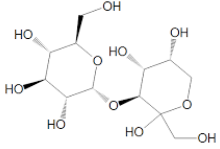
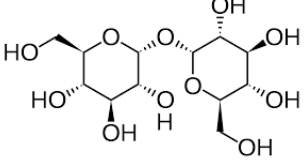
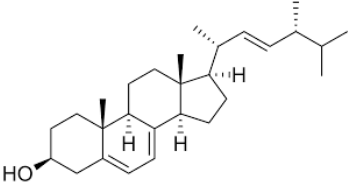
**Figura 15** - Cromatogramas do extrato orgânico (metanólico): a) tempo de retenção de 6 a 31 minutos, b) tempo de retenção de 31 a 45 minutos.

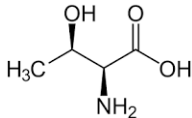
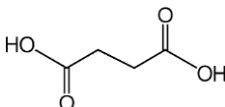
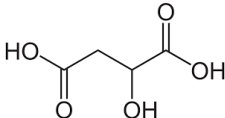
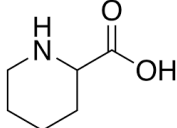
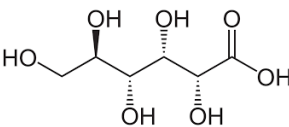
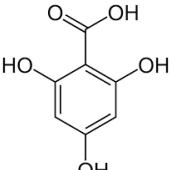


Fonte: O autor (2022).

A CG-EM do extrato orgânico neutro identificou 111 compostos, tais como: ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido benzoico), ácido succínico, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido aspártico, ácido málico, aminoácidos (valina, serina, treonina, alanina, leucina, isoleucina) e polióis (ribitol, eritritol e glucitol), ergosterol e trealose. A Tabela 8 apresenta os nomes, relação área/massa e estrutura química dos compostos com uma ou mais hidroxila caracterizados na CG-EM do extrato neutro (CALAÇA, *et al.*, 2011; CENTENARO, 2011; CHAGAS, 2020; HARTOG, *et al.*, 2009; TASSO, 2019).

**Tabela 8** - Nome, % área e estrutura química dos principais compostos com potencial antioxidante encontrados na CG-EM do extrato orgânico.

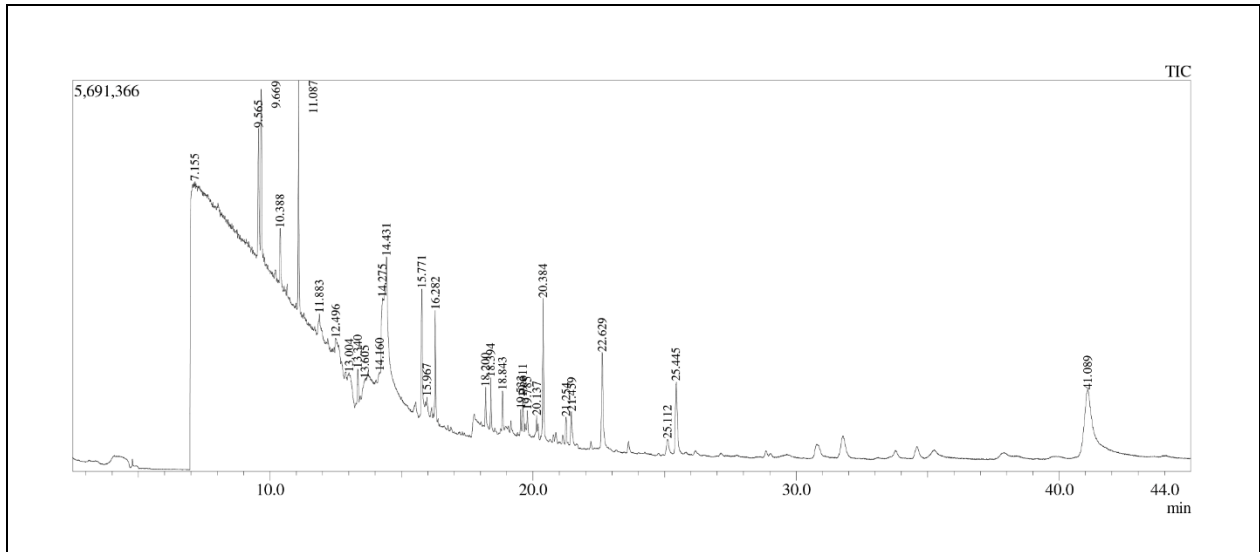
| Nome                | Area% | Estrutura química   |
|---------------------|-------|---|
| Ácido láctico       | 5,07  |    |
| Ácido piroglutâmico | 6,40  |   |
| D-lucitol           | 11,37 |  |
| Ácido linoleico     | 8,24  |  |
| D-turanose          | 8,71  |  |
| Trealose            | 18,80 |  |
| Ergosterol          | 2,41  |  |

|                                |      |   |
|--------------------------------|------|---|
| Treonina                       | 1,15 |    |
| Ácido succínico                | 1,01 |    |
| Ácido málico                   | 1,40 |    |
| Ácido piperócico               | 1,55 |    |
| Ácido D-glucônico              | 1,15 |  |
| Ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico | 1,01 |  |

Na Tabela 8 são apresentados os compostos com % de área superior a 1. Todos os compostos possuem carácter antioxidante devido à presença de hidroxila na molécula, evidenciando a capacidade de doar um próton, estabilizando o radical livre.

A Figura 16 apresenta o cromatograma do extrato aquoso ácido do *Pleurotus ostreatus*.

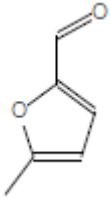
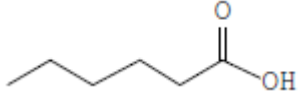
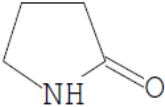
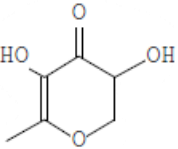
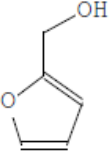
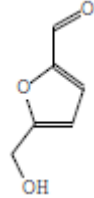
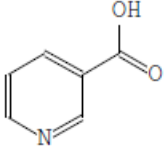

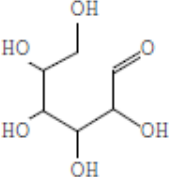
Figura 16 - Cromatograma do extrato aquoso ácido do *Pleurotus ostreatus*.



Fonte: O autor (2022).

A CG-EM do extrato ácido identificou 30 compostos. A Tabela 9 apresenta os nomes, relação área/massa e estrutura química dos compostos com uma ou mais hidroxila caracterizados na CG-EM do extrato ácido.

**Tabela 9** - Nome, relação área/peso e estrutura química dos principais compostos com potencial antioxidante encontrados na CG-EM do extrato com solvente ácido.

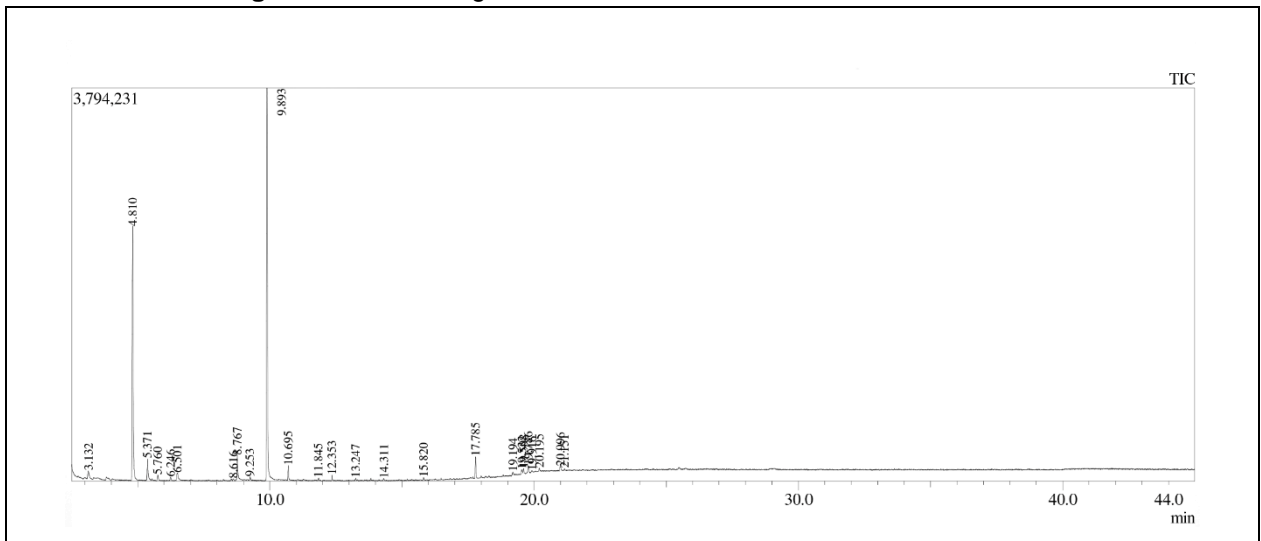
| Nome                                     | Relação área/massa | Estrutura química   |
|--|--------------------|---|
| 5-metil-2-Furanocarboxaldeído            | 2,28               |    |
| Ácido hexanoico                          | 4,69               |    |
| 2-Pirrolidona                            | 2,29               |    |
| 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-4H-Piran-4-ona | 2,39               |    |
| 2-furilmetanol                           | 3,11               |   |
| 5-Hidroximetilfurfural                   | 2,70               |  |
| Niacina                                  | 4,32               |  |
| Ácido n-hexadecanoico                    | 5,28               |  |
| D-Alose                                  | 18,69              |  |



Chen *et al.* (2021) concluíram que o 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-4H-Piran-4-ona possui maior eficiência antioxidante que o BHT nos testes de sequestro de radical livre (ABTS, DPPH e radical galvinoxil), demonstrando ser um forte antioxidante. A Niacina também chamada de ácido nicotínico é uma vitamina do complexo B, com importante ação de diminuição do colesterol (LDL) no corpo humano. Além disso, é um composto heterocíclico aromático o que confere híbridos de ressonância aumentando a estabilização da molécula após a doação de um próton ao radical livre.

A Figura 17 apresenta o cromatograma do extrato aquoso ácido do *Pleurotus ostreatus*.


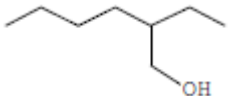

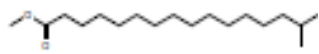
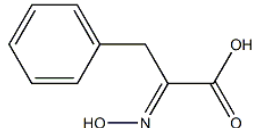
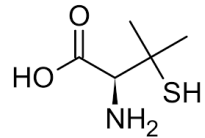
**Figura 17** - Cromatograma do extrato básico do *Pleurotus ostreatus*.



Fonte: O autor (2022).

A CG-EM do extrato básico identificou 25 compostos. A Tabela 10 apresenta os nomes, relação área/massa e estrutura química dos compostos com uma ou mais hidroxila caracterizados na CG-EM do extrato básico.

**Tabela 10** - Nome, relação área/peso e estrutura química dos principais compostos com potencial antioxidante encontrados na CG-EM do extrato com solvente básico.

| Nome   | Área/massa | Estrutura química  |
|--|------------|--|
| 1-Butanol                                      | 2,37       |   |
| 2-Etil Hexanol                                 | 2,25       |   |
| Éster metílico do ácido hexadecanoico          | 2,06       |   |
| Éster metílico do ácido 15-metil-hexadecanoico | 2,25       |   |
| Ácido 2-(Hidroxi-imino)-3-fenilpropanoico      | 3,87       |   |
| Penicilamina                                   | 1,44       |  |

Os ésteres metílicos saturados possuem maior estabilidade oxidativa que os ésteres metílicos insaturados. A penicilamina é um agente quelante de metais e é utilizado como medicamento para remoção de cobre no corpo humano. O grupo hidroxila presente na estrutura do antioxidante facilita a doação de prótons, reduzindo a formação de radicais livres e sua propagação, diminuindo a taxa de oxidação (YAKOUB *et al.*, 2014).

A caracterização dos extratos apresentou diferentes compostos quando comparados com os resultados encontrados na literatura, tais como: vitamina B1, B3, B6, C, E, flavonoides (crisina e rutina),  $\beta$ -carotenos e antocianinas (DUNDAR *et al.*, 2009; JAYAKUMAR *et al.*, 2009; STAFUSSA *et al.*, 2012).

## 5.2. PRIMEIRO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos do delineamento experimental simplex centroide foram realizados no equipamento Rancimat®, seguindo a norma EN14112. Nas três temperaturas as misturas foram investigadas em duplicata, com exceção do ponto central que foi investigado em triplicata. Os resultados são apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11** - Resultados da estabilidade oxidativa do biodiesel obtidos com o delineamento de misturas simplex centroide nas temperaturas de 100, 110 e 120 °C.

| Experimentos  | Variáveis codificadas |                    |                | Y (h)        |             |             |
|---|-----------------------|--------------------|----------------|--------------|-------------|-------------|
|   | x <sub>1</sub>        | x <sub>2</sub>     | x <sub>3</sub> | 100          | 110         | 120         |
| 1   | 1                     | 0                  | 0              | 16,69 ± 1,32 | 9,28 ± 0,06 | 3,98 ± 0,47 |
| 2   | 0                     | 1                  | 0              | 12,95 ± 0,65 | 7,65 ± 0,43 | 2,98 ± 0,22 |
| 3   | 0                     | 0                  | 1              | 16,11 ± 0,52 | 8,58 ± 0,59 | 3,79 ± 0,19 |
| 4   | ½                     | ½                  | 0              | 14,47 ± 0,91 | 7,74 ± 0,45 | 3,91 ± 0,18 |
| 5   | ½                     | 0                  | ½              | 16,22 ± 0,48 | 7,83 ± 0,23 | 3,29 ± 0,18 |
| 6   | 0                     | ½                  | ½              | 17,0 ± 0,18  | 8,49 ± 0,39 | 4,07 ± 0,07 |
| 7   | 1/3                   | 1/3                | 1/3            | 16,11        | 8,32 ± 0,35 | 4,0         |
| 8   | 1/3                   | 1/3                | 1/3            | 16           | 8 ± 0,28    | 3,91        |
| 9   | 1/3                   | 1/3                | 1/3            | 17,36        | 7,78 ± 0,34 | 3,32        |
| Variáveis Independentes                                 |                       | Níveis Codificados |                |              |             |             |
|   |                       | 0                  | 1              | 1/2          | 1/3         |             |
| x <sub>1</sub> = Extrato ácido 5,0 g L <sup>-1</sup>    |                       | 0                  | 5              | 2,5          | 1,67        |             |
| x <sub>2</sub> = Extrato orgânico 5,0 g L <sup>-1</sup> |                       | 0                  | 5,0            | 2,5          | 1,67        |             |
| x <sub>3</sub> = Extrato básico 5,0 g L <sup>-1</sup>   |                       | 0                  | 5,0            | 2,5          | 1,67        |             |

FONTE: O autor (2022).

O biodiesel B100 apresentou período de indução de  $3,19 \pm 0,03$  h, portanto, as misturas (1:0:0) e (0:0:1) aumentaram a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja em 159,2 e 139,6%, respectivamente.

O aumento do período de indução foi devido aos compostos antioxidantes encontrados nos extratos. O desempenho mais elevado da extração ácida provavelmente foi atribuído ao solvente utilizado ser a água. Kalyoncu *et al.* 2010 estudaram a atividade antioxidante de 21 espécies de cogumelos e encontraram maior atividade antioxidante em meio aquoso do que em meio etanólico para 12 das espécies estudadas (KALYONCU *et al.*, 2010). Da Silva (2016) concluiu que a extração realizada com solução hidroalcoólica com maior teor de água resultou em valores superiores de fenóis totais comparado com soluções alcoólicas.

Os modelos para 100 e 110 °C fornecidos pelo software Statistica foram significativos em nível 5%. Contudo, para a 120°C o valor de p foi de 0,1508, o qual representa intervalo de confiança e aproximadamente 85%.

As equações do modelo cúbico para as temperaturas de 100, 110 e 120°C são demonstradas respectivamente pelas equações (18), (19) e (20).

$$Y_{100\text{ °C}} = 16,69x_1^* + 12,95x_2^* + 16,44x_3^* - 1,39x_1x_2 - 1,39x_1x_3 + 9,22x_2x_3 + 11,45x_1x_2x_3 \quad \text{Eq. (18)}$$

$$Y_{110\text{ °C}} = 9,28x_1^* + 7,65x_2^* + 8,58x_3^* - 2,14x_1x_2 - 3,93x_1x_3 + 2,39x_2x_3 - 1,74x_1x_2x_3 \quad \text{Eq. (19)}$$

$$Y_{120\text{ °C}} = 3,98x_1^* + 2,98x_2^* + 3,79x_3^* - 0,75x_1x_2 - 0,11x_1x_3 + 2,76x_2x_3 - 2,08x_1x_2x_3 \quad \text{Eq. (20)}$$

Onde,

Y= tempo de indução (h);

x<sub>1</sub>= concentração do extrato ácido de cogumelo shimeji;

x<sub>2</sub>= concentração do extrato orgânico de cogumelo shimeji;

x<sub>3</sub>= concentração do extrato básico de cogumelo shimeji;

x<sub>1</sub>x<sub>2</sub>, x<sub>1</sub>x<sub>3</sub>, x<sub>2</sub>x<sub>3</sub> = interação para misturas binárias;

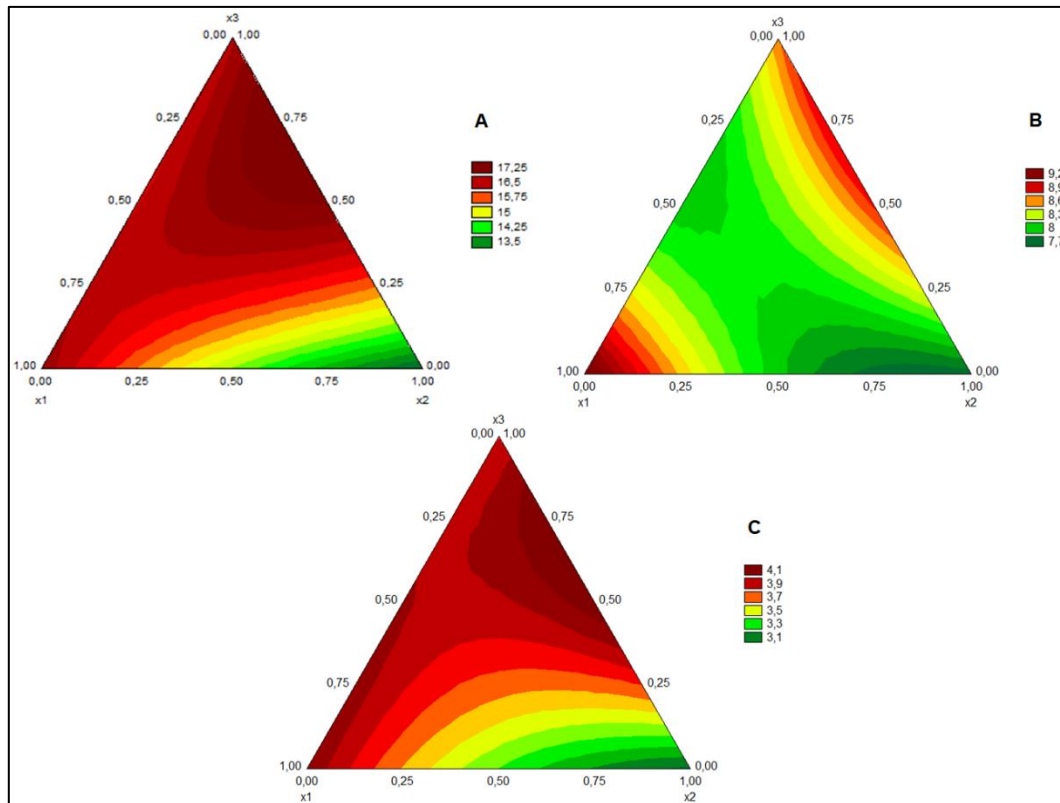
x<sub>1</sub>x<sub>2</sub>x<sub>3</sub>= interação para mistura ternária.

Para as três temperaturas estudadas as variáveis x<sub>1</sub>, x<sub>2</sub> e x<sub>3</sub> (analisadas de maneiras individual) foram significativas em nível de 5%. Duas misturas binárias foram significativas nesse nível, x<sub>2</sub>x<sub>3</sub> para 100°C e x<sub>1</sub>x<sub>3</sub> para 110°C. Já a mistura ternária (x<sub>1</sub>x<sub>2</sub>x<sub>3</sub>) não se apresentou significativa para o intervalo de confiança de 95% em 100, 110 e 120 °C. Deste modo, para descrever a equação dos modelos foram consideradas somente os termos que demonstraram valor de p menor que 0,05.

O valor de coeficiente total de terminação (R<sup>2</sup>) observado para 100, 110 e 120°C foram de 81,8, 81,69 e 70,94%. O R<sup>2</sup> para as temperaturas de 100 e 110°C podem ser considerados satisfatórios por serem maiores que 80%. Conseqüentemente, para 120°C os resultados obtidos não possuem correlação satisfatória (BISHT *et al.*, 2012a, 2012b; KUMAR *et al.*, 2015; MAIA *et al.*, 2016).

A Figura 18 apresenta as superfícies de contorno para as três temperaturas estudadas. Cada vértice do triângulo representa um extrato do cogumelo *Pleurotus ostreatus* empregado, onde,  $x_1$  representa a extração ácida,  $x_2$  a extração orgânica e  $x_3$  a extração básica.

**Figura 18** - Superfícies de contorno para as temperaturas de 100 °C (A), 110 °C (B) e 120 °C (C).



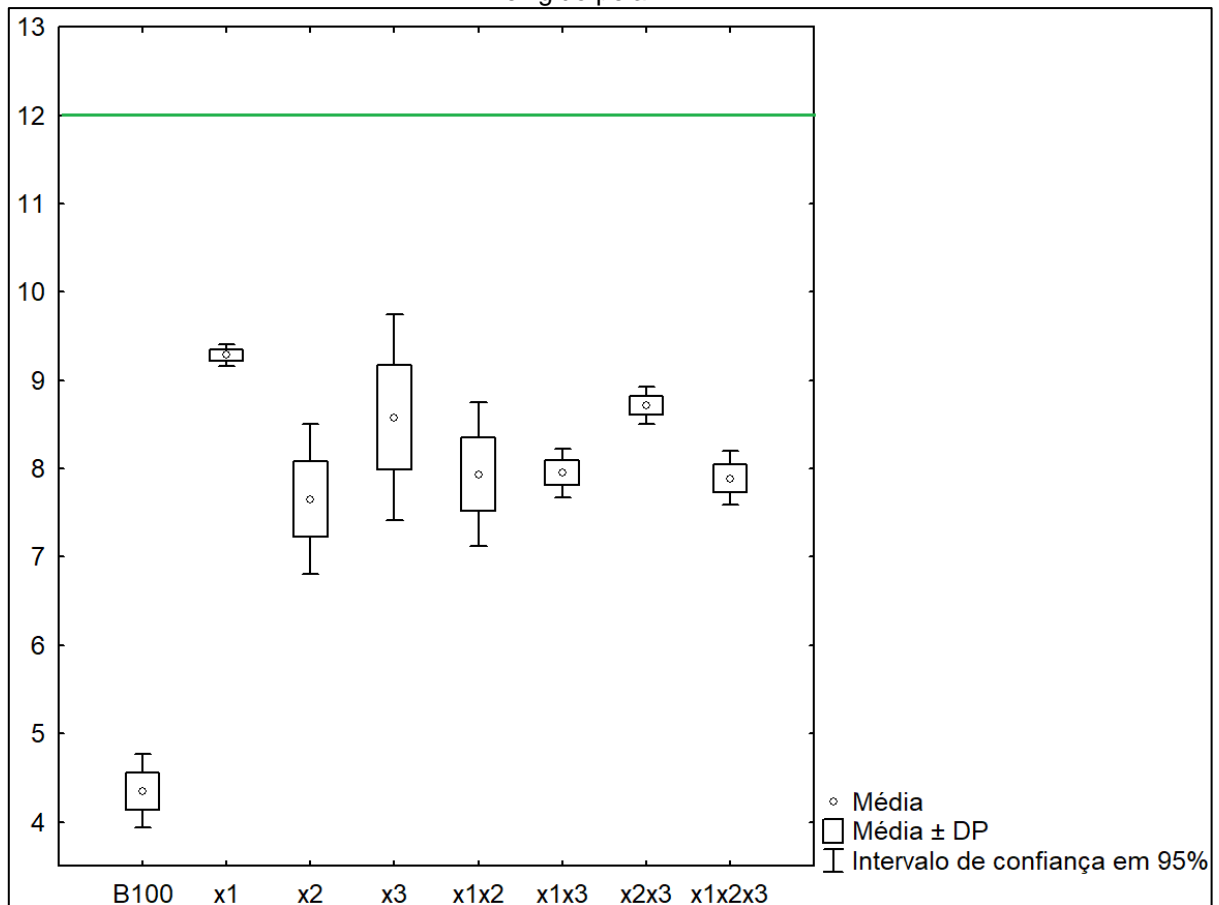
FONTE: O autor (2022).

Para 100 °C (19A) as extrações ácida e básica apresentaram melhor desempenho em elevar a estabilidade oxidativa do biodiesel, ao contrário da extração orgânica que mostrou menor potencial antioxidante. A região superior direita do triângulo indica um resultado mais elevado, onde o experimento 6 (0:1/2:1/2) resultou em um período de indução de  $17 \pm 0,18$  h. Esse valor é superior que dos experimentos 2 (0:1:0) e 3 (0:0:1), portanto, a combinação entre o extrato básico e orgânico elevou mais a estabilidade oxidativa do biodiesel do que testados individualmente.

Para 110 °C o extrato ácido (1:0:0) apresentou maior potencial antioxidante, o qual resultou em um período de indução de  $9,28 \pm 0,06$  h. A extração orgânica (0:1:0) apresentou menor desempenho em elevar a estabilidade oxidativa.

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) estipula que o período de indução mínimo do biodiesel é de 12 h à 110°C, para que haja comercialização segura, onde o biodiesel pode ser consumido e/ou armazenado mantendo suas propriedades físico-químicas. Portanto, nenhum dos experimentos realizados satisfazem esse limite. A Figura 19 apresenta o gráfico Box & Whisker Plot com os resultados de período de indução a 110 °C.

**Figura 19** - Gráfico box & whisker plot dos resultados dos experimentos à 110 °C. (---) limite mínimo exigido pela ANP.



FONTE: O autor (2022).

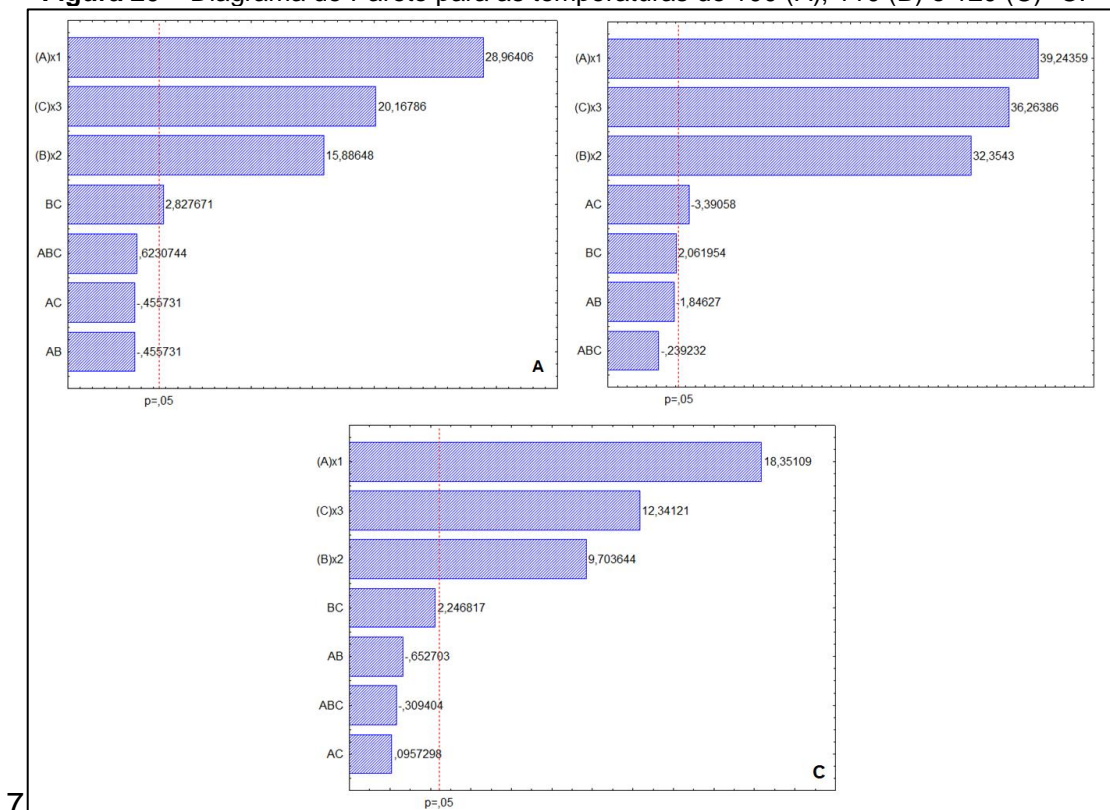
Para 120°C observa-se resultados semelhantes aos de 100 °C, onde, as extrações ácida e básica demonstraram melhor desempenho e a extração orgânica com

menor potencial em elevar a estabilidade oxidativa do biodiesel. A mistura do extrato básico com o orgânico (0:½:½) apresentou um período de indução de 4,07 h, sendo maior que os valores dos extratos separados.

Portanto, o extrato orgânico apresentou menor potencial antioxidante e o extrato ácido o potencial antioxidante mais eficiente em 100, 110 e 120 °C.

A Figura 20 apresenta o diagrama de Pareto para as temperaturas estudadas, o qual mostra as interações entre as variáveis.

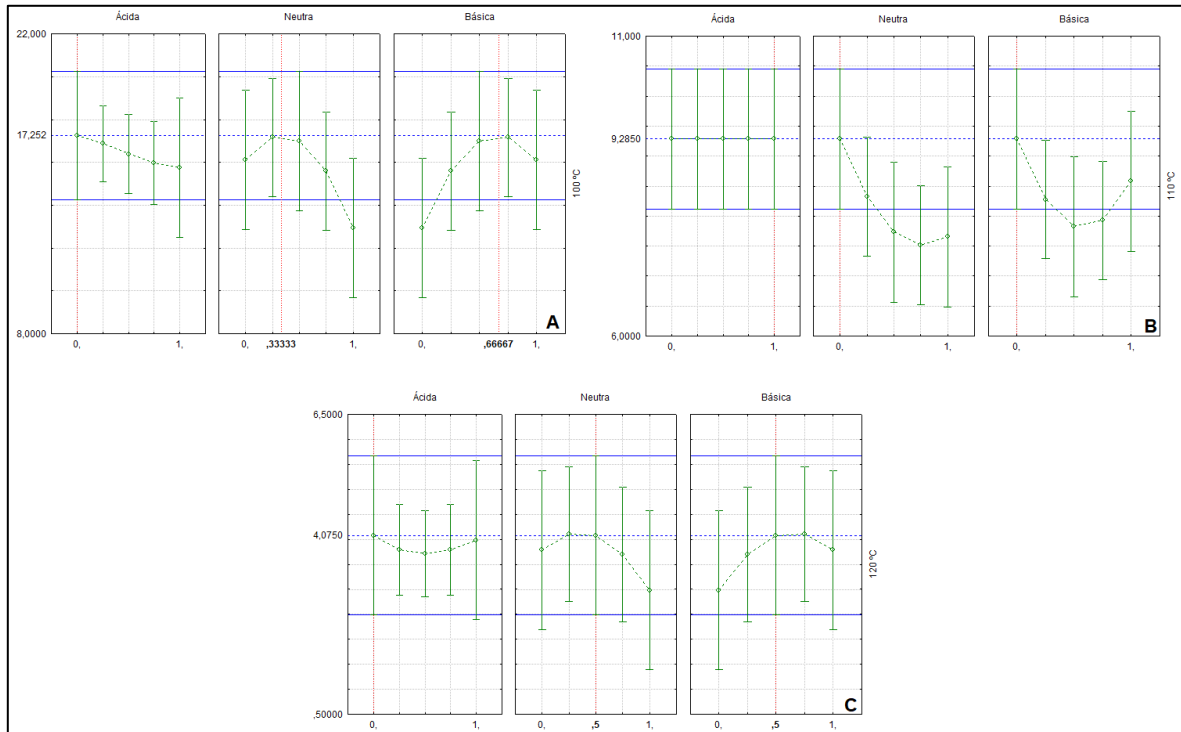
**Figura 20** – Diagrama de Pareto para as temperaturas de 100 (A), 110 (B) e 120 (C) °C.



Em todas as temperaturas estudadas as variáveis  $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3$  foram significativas em nível de 5% e  $x_2x_3$  somente em 100 e 110°C. Os diagramas mostram que as variáveis empregadas de forma individual apresentam desempenho mais elevado, com destaque para a extração ácida ( $x_1$ ). As interações binárias AB ( $x_1$  com  $x_2$ ), AC ( $x_1$  com  $x_3$ ) e a interação ternária ABC não foram significativas em intervalo de 95% de confiança.

Como tentativa de descobrir uma condição ótima que resultasse em um valor superior do que já encontrado no delineamento experimental simplex centroide, foi aplicada a otimização do modelo. A Figura 21 apresenta os gráficos de condições ótimas fornecidas pelo modelo, para as temperaturas de 100, 110 e 120°C.

**Figura 21** - Condições ótimas para o modelo simplex centroide, sendo A) 100°C, B) 110°C e C) 120°C.



Fonte: O autor (2022).

Os valores de condições ótimas propostos pelo modelo são semelhantes para 100 e 120 °C, onde, a mistura dos processos orgânico e básico de extração indicam resultado mais satisfatório do que utilizar os mesmos de forma individual. Contudo, a mistura desses dois processos não resulta em um valor de período de indução maior que o emprego da extração ácida. Portanto, os desempenhos mais elevados já foram verificados, sendo, a aplicação do extrato ácido o maior potencial antioxidante para o biodiesel de soja.

Como o uso dos extratos do *Pleurotus ostreatus* não atingiram o valor mínimo de 12 h para o parâmetro de estabilidade oxidativa exigido pela ANP, foi realizado outro delineamento experimental utilizando o extrato aquoso ácido e mais dois antioxidantes naturais.



### 5.3. SEGUNDO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para investigar um possível sinergismo entre os antioxidantes do *Pleurotus ostreatus* (extração aquosa ácida) com o ácido cítrico e vitamina E, foram realizados cinco simplex centróides nas temperaturas de 100, 110, 120, 130 e 140 °C. As concentrações utilizadas foram 5 g L<sup>-1</sup> para *Pleurotus ostreatus* (x<sub>1</sub>), 300 ppm para ácido cítrico (x<sub>2</sub>) e 150 ppm para vitamina E (x<sub>3</sub>). O vetor resposta (Y) foi o período de indução (h).

Os resultados de período de indução (P.I) para as temperaturas estudadas se encontram na Tabela 12.

**Tabela 12** - Resultados das médias de P.I (h) dos experimentos em triplicata para as temperaturas de 100, 110, 120, 130 e 140 °C.

| Exp  | Y (h)        |              |             |             |             |
|------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
|      | 100 °C       | 110 °C       | 120 °C      | 130 °C      | 140 °C      |
| 1    | 16,69 ± 1,32 | 9,28 ± 0,06  | 3,98 ± 0,47 | 2,39 ± 0,02 | 1,18 ± 0,10 |
| 2    | 9,90 ± 0,53  | 4,46 ± 0,51  | 2,41 ± 0,04 | 1,42 ± 0,02 | 0,63 ± 0,02 |
| 3    | 9,84 ± 0,21  | 5,48 ± 0,39  | 2,58 ± 0,01 | 1,22 ± 0,13 | 0,52 ± 0,06 |
| 4    | 22,94 ± 0,13 | 10,79 ± 0,13 | 5,16 ± 0,06 | 2,44 ± 0,03 | 1,12 ± 0,08 |
| 5    | 22,98 ± 0,44 | 10,91 ± 0,09 | 5,19 ± 0,05 | 2,49 ± 0,03 | 1,28 ± 0,03 |
| 6    | 9,99 ± 0,27  | 4,67 ± 0,16  | 2,34 ± 0,02 | 1,12 ± 0,06 | 0,55 ± 0,04 |
| 7    | 16,80 ± 0,04 | 7,74 ± 0,06  | 3,76 ± 0,07 | 2,04 ± 0,23 | 1,12 ± 0,05 |
| 8    | 15,89 ± 0,22 | 7,39 ± 0,39  | 3,32 ± 0,20 | 1,80 ± 0,30 | 1,16 ± 0,11 |
| 9    | 16,81 ± 0,39 | 7,85 ± 0,31  | 3,52 ± 0,27 | 2,22 ± 0,27 | 1,20 ± 0,13 |
| B100 | 8,20 ± 0,43  | 3,58 ± 0,03  | 1,97 ± 0,09 | 1,07 ± 0,04 | 0,62 ± 0,06 |

Fonte: O autor (2022).

Os resultados apresentados na Tabela 12 mostram que com o aumento da temperatura há um decréscimo no período de indução. Esse fato já era esperado, pois, com o aumento da temperatura aumenta-se a velocidade das moléculas (consequentemente as colisões efetivas) e a instabilidade das duplas ligações presentes nos ésteres metílicos, favorecendo a reação de oxidação do biodiesel.

Para a temperatura de 110 °C as misturas (0:1:0), (0:0:1) e (0:0,5:0,5) apresentaram os menores valores de P.I em relação ao biodiesel B100, representando aumento percentual de 24,6%, 53,07% e 30,44% respectivamente.

O ponto central (0,33:0,33:0,33) e a mistura (1:0:0) proporcionaram um P.I intermediário com aumento percentual médio de 117,9% e 159,2%.

Já as misturas binárias (0,5:0,5:0) e (0,5:0:0,5) demonstraram as melhores proteções contra a oxidação do biodiesel de soja, com aumento percentual de 210% e 213,5%, respectivamente. Adicionalmente, apresentaram sinergismo, uma vez que, separadamente os componentes das misturas oferecem P.I menor do que quando combinados. Não há como ressaltar qual dos efeitos sinérgicos é o melhor, pois, estatisticamente os valores encontrados são iguais.

O efeito sinérgico causado pela adição do ácido cítrico juntamente ao P.O foi atribuído a provável complexação de metais oriundos do extrato do P.O, uma vez que, os cogumelos são fontes de metais como Potássio (K), Cobre (Cu), Ferro (Fe) e Zinco (Zn), que possivelmente foram adicionados ao biodiesel no processo de lavagem (STURION & RANZANI, 2000).

Já para a vitamina E, o efeito sinérgico foi atribuído a duas ou três possibilidades que podem ter ocorrido simultaneamente ou separadamente, onde o tocoferol renovou os antioxidantes provenientes do *Pleurotus ostreatus* atuando como sinergista e/ou como antioxidante primário onde retardou a etapa de iniciação, inibindo a propagação de radicais livres oriundos do processo oxidativo das moléculas do biodiesel. E por último, na concentração utilizada (abaixo de 100 ppm) pode atuar como inibidor da formação de hidroperóxidos, ou seja, inibindo a etapa de propagação.

Esse efeito fica evidente nas temperaturas de 100, 110 e 120°C. Já nas temperaturas de 130 e 140 °C não é possível afirmar devido aos valores serem estatisticamente iguais. Atribui-se esse fato devido as temperaturas mais altas aumentar a instabilidade das moléculas dos antioxidantes (ácido cítrico e vitamina E), conseqüentemente diminuindo o efeito antioxidantes dos mesmos. O ácido cítrico sofre um processo de desidratação e descarboxilação em temperaturas próximas a 140°C (CAMPOS; THIM, 2008). Muito provavelmente em 130°C o seu efeito protetor já foi prejudicado. Da mesma forma para a vitamina E, onde Gonçalves, Março e Valderrama (2015) evidenciam a degradação dos tocoferóis em temperatura elevadas. Portanto, ocorreu uma diminuição do efeito de proteção e degradação dos mesmos.

Os modelos do simplex centroide contendo as variáveis independentes codificadas, são apresentados nas equações 21, 22, 23, 24 e 25, onde estão contidos os

termos lineares e quadráticos de interação e o vetor resposta (Y) é o período de indução (h).

$$Y_{100} = 16,69x_1 + 9,90x_2 + 9,84x_3 + 38,91x_1x_2 + 38,86x_1x_3 - 117,13x_1x_2x_3 \quad \text{Eq. 21}$$

$$Y_{110} = 9,26x_1 + 4,46x_2 + 5,48x_3 + 15,74x_1x_2 + 14,15x_1x_3 - 52,12x_1x_2x_3 \quad \text{Eq. 22}$$

$$Y_{120} = 3,98x_1 + 2,41x_2 + 2,58x_3 + 7,88x_1x_2 + 7,65x_1x_3 - 30,07x_1x_2x_3 \quad \text{Eq. 23}$$

$$Y_{130} = 2,39x_1 + 1,42x_2 + 1,22x_3 \quad \text{Eq. 24}$$

$$Y_{140} = 1,12x_1 + 0,62x_2 + 0,53x_3 \quad \text{Eq. 25}$$

Sendo que:

Y= período de indução do biodiesel pelo método Rancimat® = h;

x<sub>1</sub>= concentração do antioxidante *Pleurotus ostreatus* = g L<sup>-1</sup>

x<sub>2</sub>= concentração do antioxidante ácido cítrico = ppm

x<sub>3</sub>= concentração do antioxidante vitamina E = ppm

x<sub>1</sub>x<sub>2</sub> e x<sub>1</sub>x<sub>3</sub>= misturas binárias;

x<sub>1</sub>x<sub>2</sub>x<sub>3</sub>= mistura ternária.

Para as temperaturas de 100, 110, 120, 130 e 140 °C os termos binários são significativos e influenciam positivamente na resposta. Isso indica que houve efeito sinérgico nas misturas x<sub>1</sub>x<sub>2</sub> e x<sub>1</sub>x<sub>3</sub>. A termo ternário também foi significativo nessas três temperaturas, contudo, com influência negativa na resposta, apresentando efeito antagônico.

Os valores dos coeficientes de determinação observado (R<sup>2</sup>) e p para os modelos nas cinco temperaturas estudadas são apresentados nas Tabelas 13, 14, 15, 16, 17.

**Tabela 13** - Resultados da ANOVA® para simplex centroide na temperatura de 100°C.

| Modelo          | Soma dos quadrados | gl | Média dos quadrados | F               | p               | R <sup>2</sup>  | R <sup>2</sup> Adj |
|-----------------|--------------------|----|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| Linear          | 94,6816            | 2  | 47,34082            | 2,45052         | 0,166744        | 0,449593        | 0,266124           |
| Quadrático      | 95,8091            | 3  | 31,93636            | 4,76586         | 0,116026        | 0,904540        | 0,745441           |
| Cúbico especial | 19,5450            | 1  | 19,54503            | <b>70,02876</b> | <b>0,013981</b> | <b>0,997349</b> | <b>0,989398</b>    |
| Total ajustado  | 210,5940           | 8  | 26,32424            |                 |                 |                 |                    |

**Tabela 14** - Resultados da ANOVA® para simplex centroide na temperatura de 110°C.

| Modelo          | Soma dos quadrados | gl | Média dos quadrados | F               | p               | R <sup>2</sup>  | R <sup>2</sup> Adj |
|-----------------|--------------------|----|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| Linear          | 29,48689           | 2  | 14,74344            | 5,07099         | 0,051355        | 0,628298        | 0,504398           |
| Quadrático      | 13,45867           | 3  | 4,48622             | 3,37666         | 0,172131        | 0,915072        | 0,773525           |
| Cúbico especial | 3,87039            | 1  | 3,87039             | <b>67,07786</b> | <b>0,014583</b> | <b>0,997541</b> | <b>0,990164</b>    |
| Total ajustado  | 46,93135           | 8  | 5,86642             |                 |                 |                 |                    |

**Tabela 15** - Resultados da ANOVA® para simplex centroide na temperatura de 120°C.

| Modelo          | Soma dos quadrados | gl | Média dos quadrados | F               | p               | R <sup>2</sup>  | R <sup>2</sup> Adj |
|-----------------|--------------------|----|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| Linear          | 4,507510           | 2  | 2,253755            | 2,83329         | 0,136026        | 0,485711        | 0,314281           |
| Quadrático      | 3,387193           | 3  | 1,129064            | 2,44468         | 0,241053        | 0,850700        | 0,601868           |
| Cúbico especial | 1,288470           | 1  | 1,288470            | <b>26,54814</b> | <b>0,035665</b> | <b>0,989540</b> | <b>0,958162</b>    |
| Total ajustado  | 9,280239           | 8  | 1,160030            |                 |                 |                 |                    |

**Tabela 16** - Resultados da ANOVA para simplex centroide na temperatura de 130°C.

| Modelo          | Soma dos quadrados | gl | Média dos quadrados | F               | p               | R <sup>2</sup>  | R <sup>2</sup> Adj |
|-----------------|--------------------|----|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| Linear          | 1,636263           | 2  | 0,818132            | <b>7,287300</b> | <b>0,024800</b> | <b>0,708378</b> | <b>0,811171</b>    |
| Quadrático      | 0,571860           | 3  | 0,190620            | 5,620297        | 0,095017        | 0,955950        | 0,882534           |
| Cúbico especial | 0,012949           | 1  | 0,012949            | 0,291645        | 0,643259        | 0,961556        | 0,846225           |
| Total ajustado  | 2,309872           | 8  | 0,288734            |                 |                 |                 |                    |

**Tabela 17** - Resultados da ANOVA para simplex centroide na temperatura de 140°C.

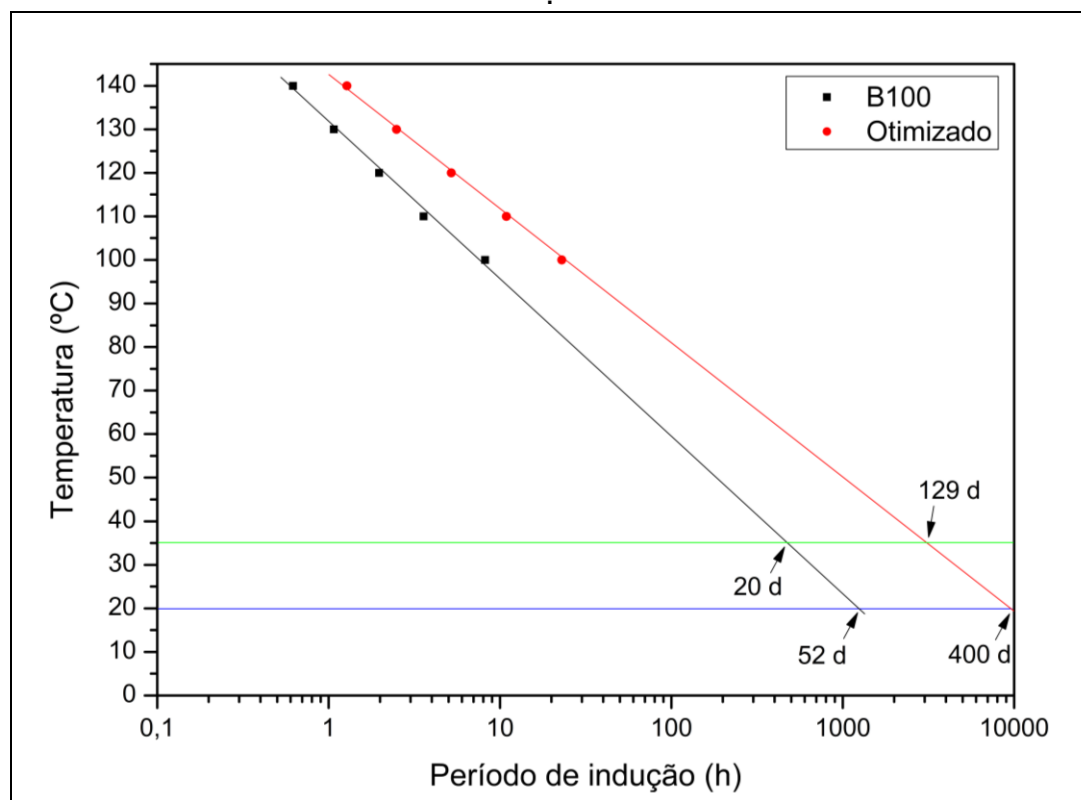
| Modelo          | Soma dos quadrados | gl | Média dos quadrados | F               | p               | R <sup>2</sup>  | R <sup>2</sup> Adj |
|-----------------|--------------------|----|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| Linear          | 0,419463           | 2  | 0,209732            | 3,59308         | 0,094210        | 0,544978        | 0,393304           |
| Quadrático      | 0,341609           | 3  | 0,113870            | <b>39,64513</b> | <b>0,006503</b> | <b>0,988805</b> | <b>0,970147</b>    |
| Cúbico especial | 0,005417           | 1  | 0,005417            | 3,38542         | 0,207140        | 0,995842        | 0,983370           |
| Total ajustado  | 0,769689           | 8  | 0,096211            |                 |                 |                 |                    |

Para as temperaturas de 100, 110 e 120 °C os valores de p foram significativos para o modelo especial cúbico. Para 130 °C o valor de p foi significativo para o modelo linear. Por último, para 140°C o valor de p se mostrou significativo para o modelo quadrático. A mudança do modelo significativo especial cúbico para linear e quadrático foi atribuída a provável diminuição da atividade antioxidante nas temperaturas de 130 e 140 °C.

### 5.3.1. Tempo de estocagem

O tempo de estocagem do biodiesel controle e biodiesel com maior período de indução foram calculados em 20 e 35 °C. O gráfico da extrapolação para ambas as amostras se encontra na Figura 22.

**Figura 22** - Gráfico da extrapolação do tempo de estocagem a 20 (—) e 35°C (—).



Fonte: O autor (2022)

O coeficiente de correlação  $R^2$  para o biodiesel B100 foi de 0,909 e para a amostra com maior período de indução ( $x_1x_3$  segundo delineamento) foi de 0,924. Ambos os resultados indicam uma correlação satisfatória dos dados.

O tempo de estocagem para o biodiesel B100 foi de 52 dias à 20 °C e 20 dias à 35°C. Essas quantidades são consideradas muito pequenas para que o biodiesel mantenha sua qualidade durante a distribuição e uso nos veículos. Tal fato evidencia a necessidade do uso de antioxidantes para o aumento da vida útil do biocombustível.

Já o tempo de estocagem para a amostra com maior período de indução ( $x_1x_3$  segundo delineamento) é de 129 dias à 35 °C e 400 dias à 20 °C. Essas quantidades apresentam maior probabilidade de que o biodiesel estará apto para ser distribuído e consumido.

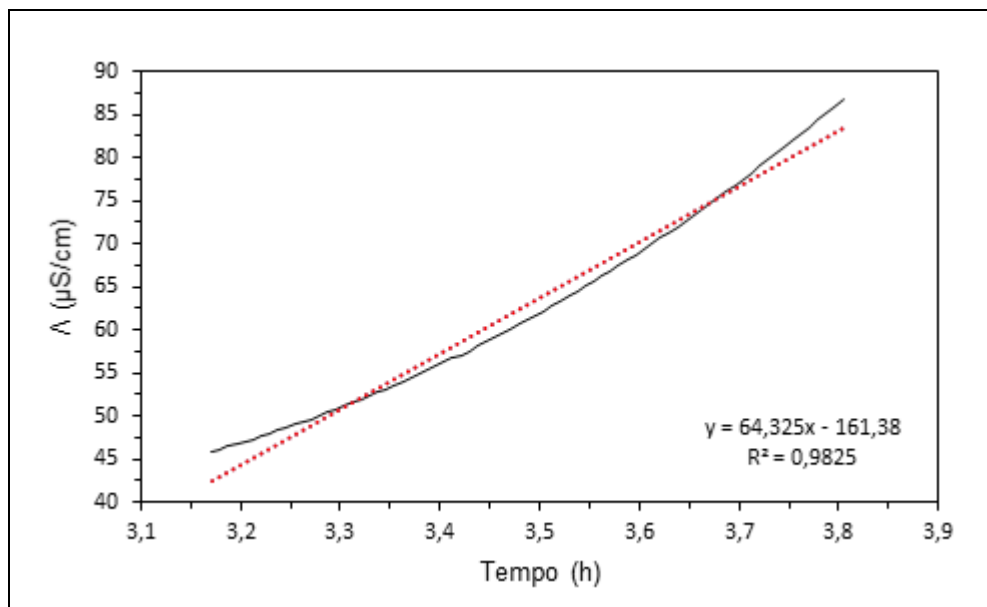
## 5.4 CINÉTICA QUÍMICA DOS BODIESEIS B100 E COM PI OTIMIZADO

### 5.4.1 Ordem de reação

Para avaliar a ordem de reação do biodiesel B100 foi utilizado os dados dos ensaios de oxidação acelerada a 110 °C, a condutividade elétrica e o tempo após o P.I, pois, é onde a reação de oxidação ocorre.

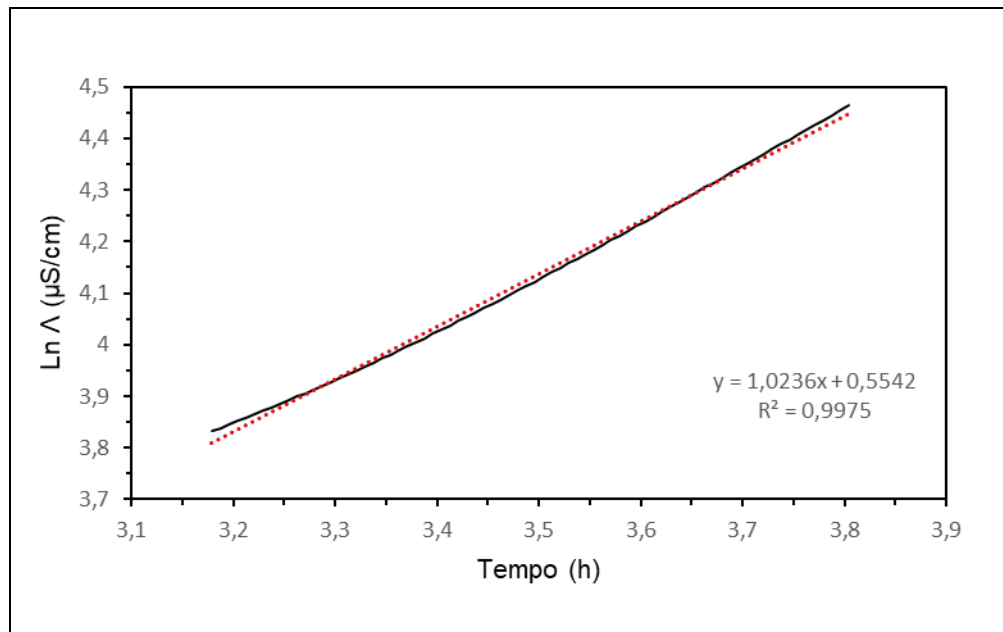
As Figuras 23, 24 e 25 apresentam os gráficos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o biodiesel B100.

**Figura 23** - Gráfico da condutividade elétrica pelo tempo para reação de ordem zero para o biodiesel B100.



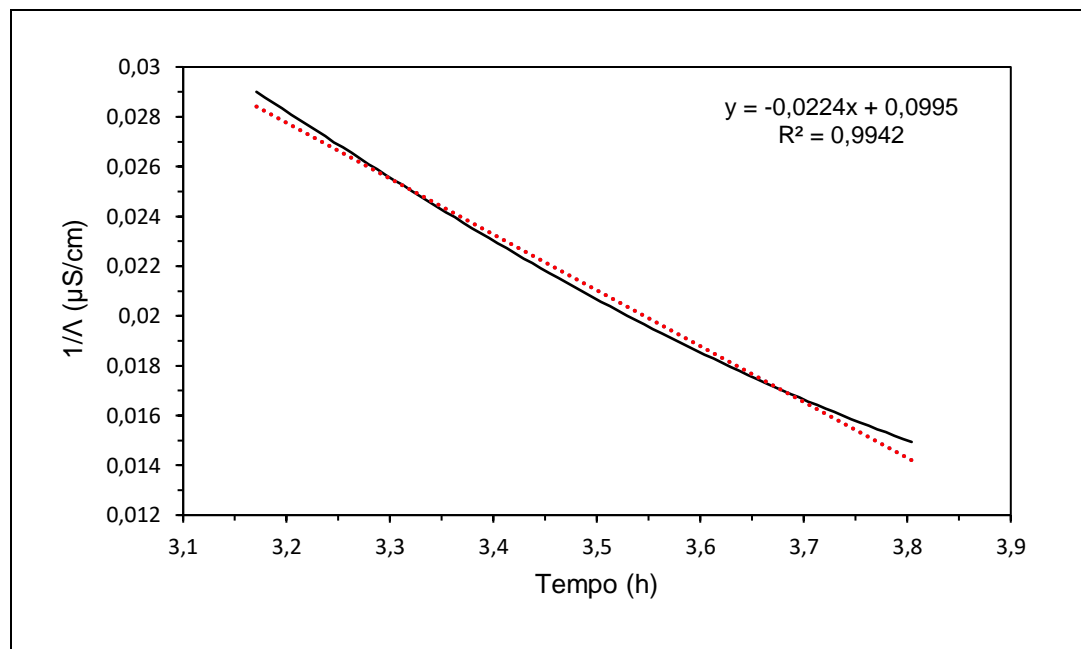
Fonte: O autor (2022).

**Figura 24** - Gráfico do logaritmo neperiano da condutividade pelo tempo para reação de primeira ordem para o biodiesel B100.



Fonte: O autor (2022).

**Figura 25** - Gráfico do inverso da condutividade elétrica pelo tempo para reação de segunda ordem para o biodiesel B100.



Fonte: O autor (2022).

O  $R^2$  com valor mais elevado foi para a reação de primeira ordem (0,9975), seguido da segunda ordem (0,9942) e ordem zero (0,9825). Esse resultado era esperado e corrobora a literatura que reporta diversos trabalhos onde mostram que a reação de

oxidação do biodiesel sem antioxidantes é de primeira ordem (GALLINA, 2011 & VIOMAR, 2013).

Foi avaliado também as três ordens de reação para o biodiesel fortificado com o extrato aquoso ácido do *Pleurotus ostreatus*, para averiguar se a adição de antioxidantes alterou o mecanismo de oxidação, conseqüentemente, a ordem de reação. O  $R^2$  com valor mais elevado foi para a reação de primeira ordem (0,9993), seguido da segunda ordem (0,9811) e ordem zero (0,9918). Portanto, a reação de oxidação do biodiesel com antioxidantes oriundos da extração aquosa ácida é de primeira ordem. Adicionalmente, todos os outros ensaios realizados apresentaram coeficiente de correlação elevado para primeira ordem, sendo maiores que 0,9844 para 100, 110, 120 e 130 °C e maiores que 0,9680 para 140 °C.

#### 5.4.2 Constante de velocidade (k), Energia de ativação ( $E_a$ ) e fator pré-exponencial (A) para o segundo delineamento experimental

Para obtenção das constantes de velocidades foi considerado a reação de oxidação como primeira ordem. Para tal, foram plotados gráficos do logaritmo neperiano da condutividade elétrica ( $\ln \Lambda$ ) versus o tempo (h) para cada experimento nas cinco temperaturas estudadas. O coeficiente angular da reta da regressão linear correspondeu a constante de velocidade (VALENGA, *et al.*, 2019).

Na tabela 18 estão contidos os resultados de constante de velocidade (k) dos ensaios do segundo delineamento experimental nas temperaturas de 100, 110, 120, 130 e 140 °C.



**Tabela 18** - Resultados de constante de velocidade para o segundo delineamento experimental nas temperaturas de 100, 110, 120, 130 e 140 °C.

| Ensaio | k (h <sup>-1</sup> ) |                |                |                |                |
|--------|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|        | 100 °C               | 110 °C         | 120 °C         | 130 °C         | 140 °C         |
| 1      | 0,4000 ± 0,035       | 0,4705 ± 0,047 | 0,7307 ± 0,017 | 0,9944 ± 0,061 | 1,3587 ± 0,004 |
| 2      | 0,6098 ± 0,047       | 0,7952 ± 0,068 | 1,1097 ± 0,06  | 1,4751 ± 0,087 | 1,8861 ± 0,045 |
| 3      | 0,5982 ± 0,032       | 0,8134 ± 0,007 | 1,2152 ± 0,124 | 1,4387 ± 0,287 | 1,9175 ± 0,070 |
| 4      | 0,4458 ± 0,013       | 0,4843 ± 0,05  | 0,8275 ± 0,08  | 1,1919 ± 0,175 | 1,4417 ± 0,068 |
| 5      | 0,3347 ± 0,046       | 0,4758 ± 0,042 | 0,6721 ± 0,007 | 1,015 ± 0,048  | 1,6107 ± 0,119 |
| 6      | 0,6836 ± 0,040       | 0,8986 ± 0,039 | 1,2135 ± 0,078 | 1,3621 ± 0,071 | 2,0183 ± 0,092 |
| 7      | 0,5355 ± 0,070       | 0,7812 ± 0,040 | 1,0231 ± 0,153 | 1,4683 ± 0,046 | 1,8444 ± 0,031 |
| 8      | 0,5637 ± 0,065       | 0,8157 ± 0,009 | 1,1447 ± 0,209 | 1,6434 ± 0,014 | 1,7884 ± 0,071 |
| 9      | 0,5357 ± 0,080       | 0,7714 ± 0,077 | 1,093 ± 0,022  | 1,3396 ± 0,030 | 1,8174 ± 0,183 |
| B100   | 0,8264 ± 0,108       | 1,0277 ± 0,04  | 1,3275 ± 0,042 | 1,6684 ± 0,075 | 2,0146 ± 0,092 |

Fonte: O autor (2022).

Na tabela 18 nota-se que em todas as temperaturas os experimentos apresentaram o mesmo comportamento do valor de k em relação ao resultado de P.I, ou seja, quanto menor o valor de k maior é a resistência a oxidação (BOSCHEN, 2020). O experimento 5 foi o que demonstrou menores valores de k e maiores valores de P.I, portanto, a mistura de P.O com vitamina E forneceu maior proteção ao biodiesel contra a oxidação. Já o controle foi o que apresentou maiores valores de k e menores valores de P.I, fato que já era esperado devido à ausência de antioxidantes. De forma similar, o experimento 6 com a mistura de ácido cítrico e vitamina E ofereceu menor proteção contra a oxidação, com valores de k maiores que os demais experimentos.

A Energia de ativação ( $E_a$ ) para cada experimento foi obtida por meio da equação de Arrhenius (equação 8) a qual expressa a dependência da constante de velocidade em relação a temperatura. A partir dos valores de logaritmo neperiano da constante de velocidade ( $\ln k$ ) nas temperaturas de 100, 110, 120, 130 e 140 °C.

A Tabela 19 apresenta os resultados de Energia de ativação e fator pré-exponencial.

**Tabela 19** - Ea e A para os experimentos do segundo delineamento experimental e biodiesel controle.

| Experimento | E <sub>a</sub> (kJ mol <sup>-1</sup> ) | A (h <sup>-1</sup> )   |
|-------------|--|------------------------|
| 1           | 40,74                                  | 1,88 x 10 <sup>5</sup> |
| 2           | 36,87                                  | 8,73 x 10 <sup>4</sup> |
| 3           | 37,24                                  | 9,92 x 10 <sup>4</sup> |
| 4           | 41,58                                  | 2,69 x 10 <sup>6</sup> |
| 5           | 49,87                                  | 3,04 x 10 <sup>6</sup> |
| 6           | 33,05                                  | 2,88 x 10 <sup>4</sup> |
| 7           | 39,84                                  | 2,05 x 10 <sup>5</sup> |
| 8           | 38,72                                  | 1,55 x 10 <sup>5</sup> |
| 9           | 38,45                                  | 1,33 x 10 <sup>5</sup> |
| B100        | 29,06                                  | 9,61 x 10 <sup>3</sup> |

Fonte: O autor (2022).

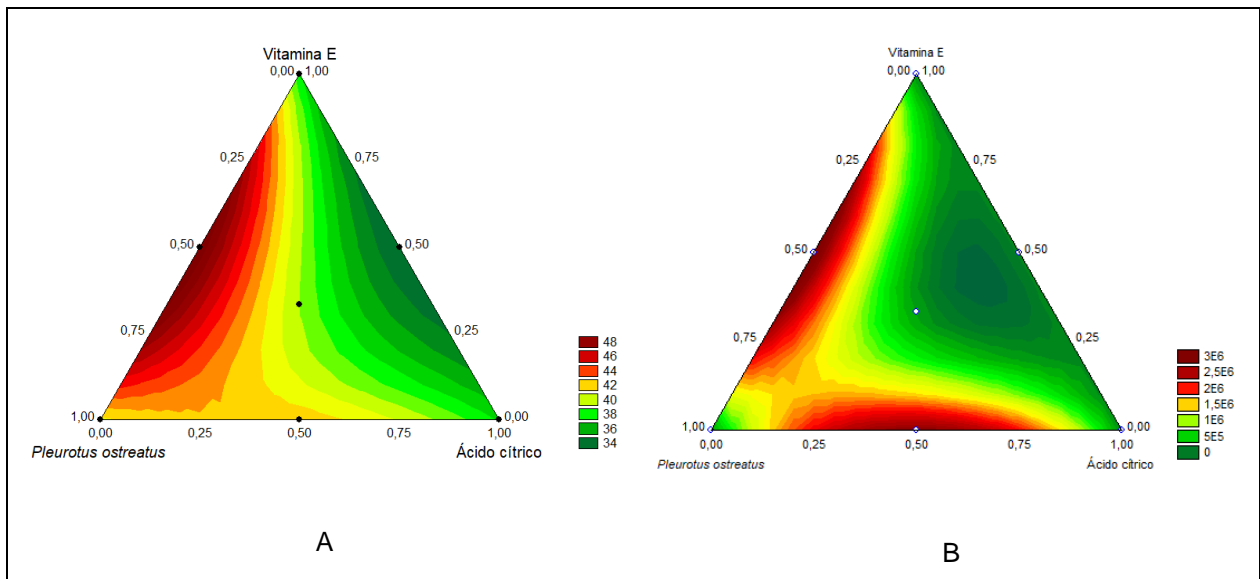
Segundo a literatura, como apontado por Galvan e colaboradores (2014), o valor de Ea deve aumentar com adição de antioxidantes, uma vez que o efeito protetor desses compostos eleva a barreira energética, retardando o início reação de oxidação do biodiesel (GALVAN, *et al.*, 2014).

A Ea do biodiesel controle (B100) foi de 29,06 kJ mol<sup>-1</sup> e 9,61x 10<sup>3</sup> para fator pré-exponencial, os quais se apresentaram como valores mais baixos em relação aos outros experimentos em que foram adicionados antioxidantes. Esse fato já era esperado, pois, a ausência de antioxidantes faz com que a reação de oxidação necessite de menos energia para acontecer, portanto, ocorre mais rapidamente.

O experimento 5 foi o que demonstrou maior valor de Ea e A, 49,87 kJ mol<sup>-1</sup> e 3,04 x 10<sup>6</sup>, respectivamente. Em segundo, o experimento 4 com resultado de 41,58 de Ea e 2,69 x 10<sup>6</sup> para A. Anteriormente no item 5.3 não foi possível afirmar por meio do período de indução, qual desses dois experimentos ofereceu maior efeito protetor, pois, os valores eram iguais estaticamente. Contudo, através dos resultados dos parâmetros cinéticos, conclui-se que o experimento 5 (0,5;0;0,5), que corresponde a mistura do extrato ácido do *Pleurotus ostreatus* e vitamina E, foi o que mais inibiu a reação de oxidação do biodiesel.

A Figura 26 apresenta os gráficos de superfície de contorno para a Energia de ativação e fator pré-exponencial.

**Figura 26** - Superfície de contorno para a Ea (A) e A (B).

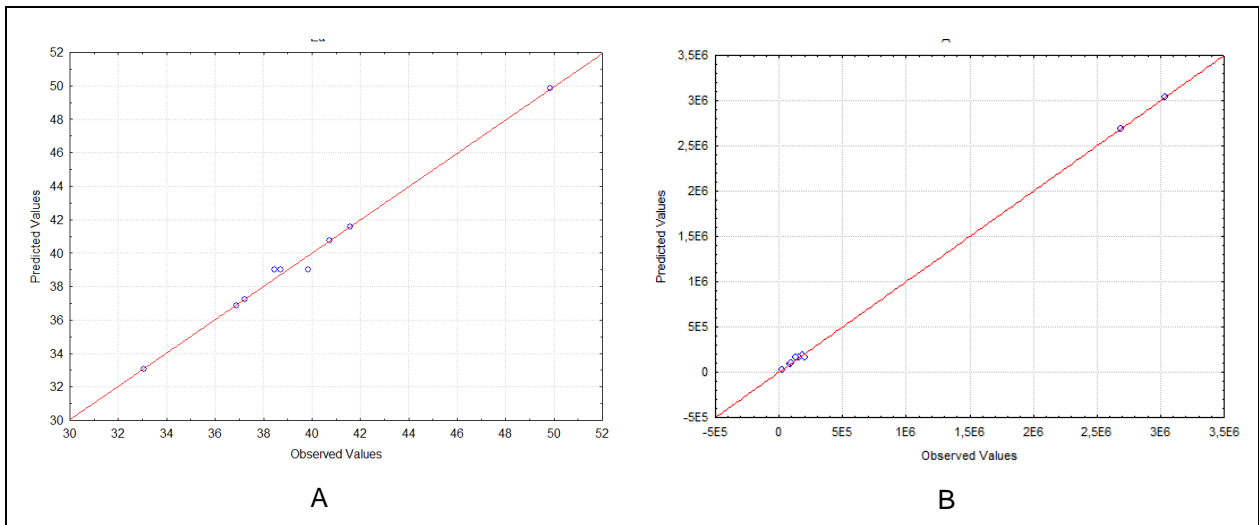


Fonte: O autor (2022).

A superfície de resposta da energia de ativação foi capaz de definir com nitidez a diferença entre os experimentos, onde, o valor mais alto de Ea é com a combinação de P.O com vitamina E, em segundo a combinação de P.O com ácido cítrico e o menor valor é a combinação entre ácido cítrico e vitamina E. Já para o fator pré-exponencial foi possível somente observar que a mistura de P.O e vitamina E e a mistura P.O e ácido cítrico apresentaram resultados mais elevados, ou seja, maior proteção contra oxidação. Para os demais experimentos os resultados foram muito próximos.

A Figura 27 apresenta os gráficos da dispersão entre os valores preditos e observados para a Ea (A) e A (B).

**Figura 27** - Gráficos da dispersão entre os valores preditos e observados para a Ea (A) e A (B).



Fonte: O autor (2022).

Os valores observados estão de acordo com os valores preditos pelo modelo para a energia de ativação (Figura 27A), ou seja, os valores observados estão distribuídos ao longo da reta e se comportando de acordo com o esperado. Já para o fator pre-exponencial (A) (Figura 27B) houve baixa dispersão para 7 dos 9 experimentos, corroborando a superfície de contorno, onde, somente os experimentos 4 e 5 apresentaram comportamento esperado.

Por meio da análise de variância foi possível verificar que os modelos são significativos e podem ser utilizados para fins preditivos (BISHT, 2013). Isto deve-se aos valores de p menores que 0,05 (0,038 para Ea e 0,0002 para A) e coeficientes de correlação ( $R_{adj}$ ) maiores que 0,80, sendo eles 0,9743 para Ea e 0,9991 para A. Nas equações 26 e 27 são apresentados os termos significativos em nível de 95% de confiança.

$$Y_{Ea} = 40,74 x_1 + 36,87 x_2 + 37,24 x_3 + 43,52x_1x_3 - 16,02 x_2x_3 - 96,36 x_1x_2x_3 \quad Eq. (26)$$

$$Y_A = 1,8 \cdot 10^5 x_1 + 1,02 \cdot 10^7 x_1x_2 + 1,15 \cdot 10^7 x_1x_3 - 6,3510^8 x_1x_2x_3 \quad Eq. (27)$$

Para ambas as equações o termo binário  $x_1x_3$  e o termo ternário  $x_1x_2x_3$  são significativos, indicando que a interação dos antioxidantes empregados influencia os parâmetros cinéticos, sendo que o termo binário influencia positivamente e o termo ternário negativamente.

#### 5.4.3 Parâmetros termodinâmicos

Os parâmetros termodinâmicos Entalpia ( $\Delta H^\ddagger$ ), Entropia ( $\Delta S^\ddagger$ ) e Energia livre de Gibbs ( $\Delta G^\ddagger$ ) foram obtidos com auxílio da equação de Eyring e Energia de Gibbs, utilizando os dados de constante de velocidade da tabela 18. A Tabela 20 apresenta os resultados dos três parâmetros estudados.

**Tabela 20** - Valores dos parâmetros termodinâmicos no estado ativado para os experimentos do segundo delineamento experimental.

| Experimentos | $\Delta H^\ddagger$ (kJ mol <sup>-1</sup> ) | $\Delta S^\ddagger$ (J K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> ) | $\Delta G^\ddagger$ (kJ mol <sup>-1</sup> ) |
|--------------|---|--|---|
| 1            | 37,48                                       | -154,47  | 95,12                                       |
| 2            | 33,61                                       | -160,86  | 93,64                                       |
| 3            | 33,98                                       | -159,79  | 93,60                                       |
| 4            | 38,32                                       | -151,5   | 94,84                                       |
| 5            | 46,61                                       | -131,33  | 95,61                                       |
| 6            | 29,79                                       | -170,08  | 93,25                                       |
| 7            | 36,58                                       | -153,74  | 93,94                                       |
| 8            | 35,47                                       | -156,09  | 93,7  |
| 9            | 35,19                                       | -157,34  | 93,9  |
| B100         | 25,80                                       | -179,20  | 92,67                                       |

FONTE: O autor (2022).

A  $\Delta H^\ddagger$  é a energia necessária para que a reação de oxidação seja favorável. Portanto, valores elevados indicam que haverá maior consumo de energia para que a reação ocorra, tornando o sistema menos reativo. Adicionalmente, para valores positivos a reação é endotérmica (SPACINO, *et al.*, 2016).

A adição de antioxidantes deve aumentar os valores de  $\Delta H^\ddagger$  quando comparados com o biodiesel controle. Esse fato pode ser observado, uma vez que, todos os experimentos apresentaram valores maiores que o B100 (25,80 kJ mol<sup>-1</sup>). Ademais, pode-se destacar o experimento 5 com valor mais elevado, de 46,61 kJ mol<sup>-1</sup> e o experimento 6 com valor mais baixo, de 29,79 kJ mol<sup>-1</sup>.

A  $\Delta S^\ddagger$  é corresponde a formação de espécies no estado ativado durante a reação de oxidação. A geração de complexos ativados acarreta na diminuição do número de espécies livres no sistema, conseqüentemente, o valor de  $\Delta S^\ddagger$  decresce. Isso ocorre devido o sistema ter maior número de moléculas quando há menos complexos ativados no meio, aumentando a desordem do sistema deixando o valor da variação de entropia menos negativo (ANGILELLI, *et al.*, 2017).

Todos os valores obtidos seguiram o previsto, sendo o  $\Delta S^\ddagger$  mais negativo para o experimento 5, que apresentou maior proteção contra a oxidação, ou seja, possui menor número de complexos ativos que conseqüentemente implica em mais desordem no sistema. O biodiesel controle apresentou o valor menos negativo com como esperado, devido a reação de oxidação acontecer mais facilmente que acarreta em um número maior de complexos ativados, portanto, mais ordem no sistema.

O  $\Delta G^\ddagger$  pode ser entendido como a variação de energia no decorrer da reação de oxidação do biodiesel. Valores mais baixos indicam processos mais favoráveis de acontecer e valores mais altos representam reações endergônicas, ou seja, menos favoráveis de ocorrer (ROMAGNOLI, *et al.*, 2018). Como esperado o biodiesel controle apresentou o menor resultado para a energia livre de Gibbs, representado a amostra em que a reação de oxidação acontece mais facilmente. Para os experimentos do segundo delineamento experimental, o experimento 5 resultou no valor mais elevado para  $\Delta G^\ddagger$ , de 95,61 kJ mol<sup>-1</sup>, representando a mistura em que mais desfavoreceu o processo de oxidação. Os demais experimentos apresentaram resultados intermediários entre o controle e o experimento 5.

A seguir são apresentadas as equações 28, 29, 30 dos modelos simplex centroide tendo  $\Delta H^\ddagger$ ,  $\Delta S^\ddagger$ ,  $\Delta G^\ddagger$  vetor resposta (Y).

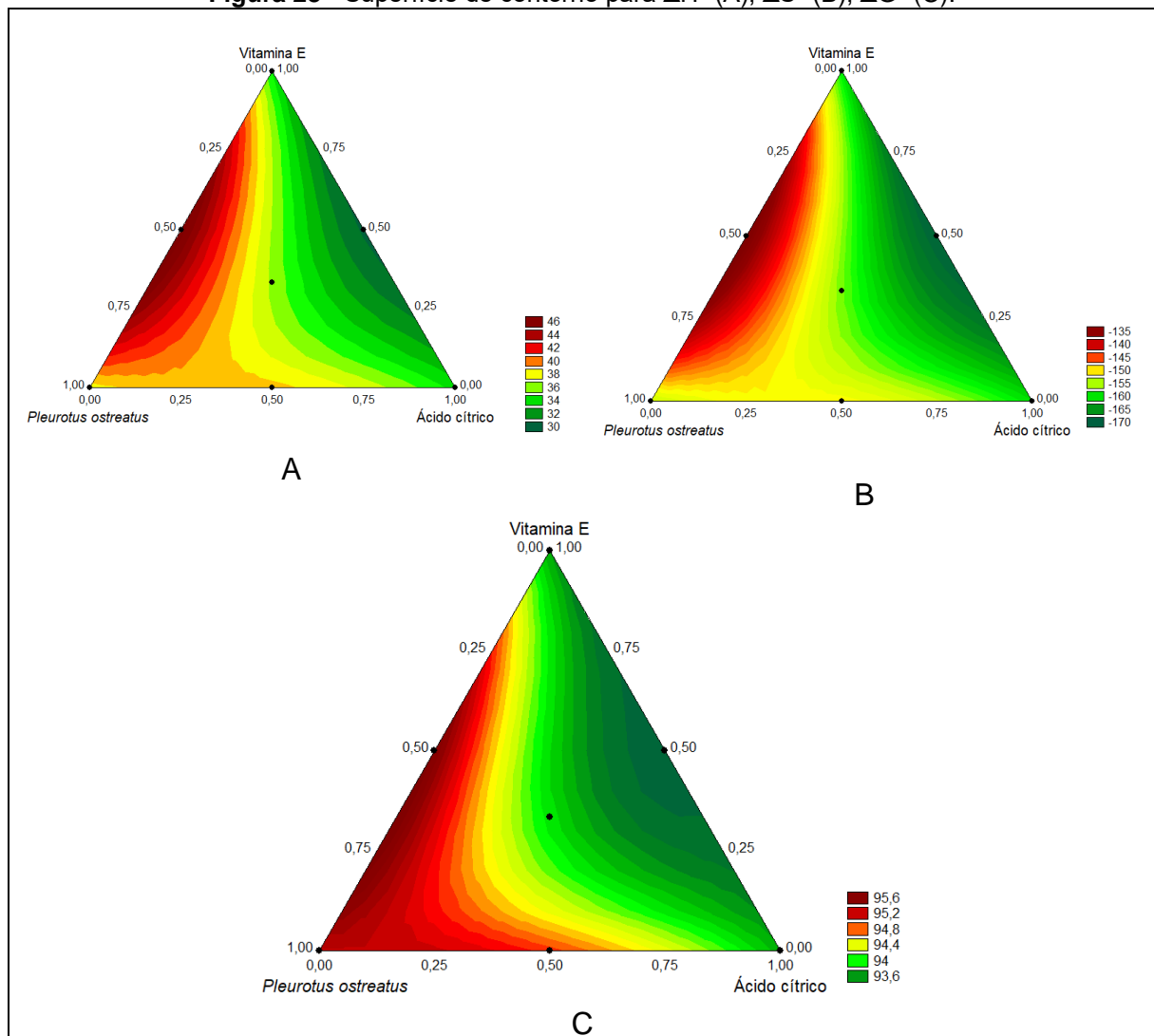
$$Y_{\Delta H^\ddagger} = 37,48x_1 + 33,63 x_2 + 33,98 x_3 + 43,52 x_1x_3 - 16,02x_2x_3 - 96,27 x_1x_2x_3 \quad \text{Eq. (28)}$$

$$Y_{\Delta S^\ddagger} = -154,47 x_1 - 160,86 x_2 - 159,79 x_3 + 103,20 x_1x_3 \quad \text{Eq. (29)}$$

$$Y_{\Delta G^\ddagger} = 95,18 x_1 + 93,64 x_2 + 93,60 x_3 + 4,80 x_1x_3 - 23,40 x_1x_2x_3 \quad \text{Eq. (30)}$$

Por meio da análise de variância foi possível verificar que os modelos para  $\Delta H^\ddagger$  e  $\Delta G^\ddagger$  são significativos e podem ser utilizados para fins preditivos (BISHT, 2013). Isto se deve aos valores de p menores que 0,05 (0,038 para  $\Delta H^\ddagger$  e 0,020 para  $\Delta G^\ddagger$ ) e coeficientes de correlação ( $R_{adj}$ ) maiores que 0,80, sendo eles 0,9743 para  $\Delta H^\ddagger$  e 0,9752 para  $\Delta G^\ddagger$ . Já para  $\Delta S^\ddagger$  o valor de p foi maior que 0,05, com valor de 0,091 e coeficiente de correlação ( $R_{adj}$ ) de 0,9323. Portanto, devido ao valor elevado de p, o modelo para ( $R_{adj}$ ) não pode ser utilizado para fins preditivos em nível de 95% de confiança. A Figura 28 apresenta as superfícies de resposta para  $\Delta H^\ddagger$ ,  $\Delta S^\ddagger$ ,  $\Delta G^\ddagger$ .

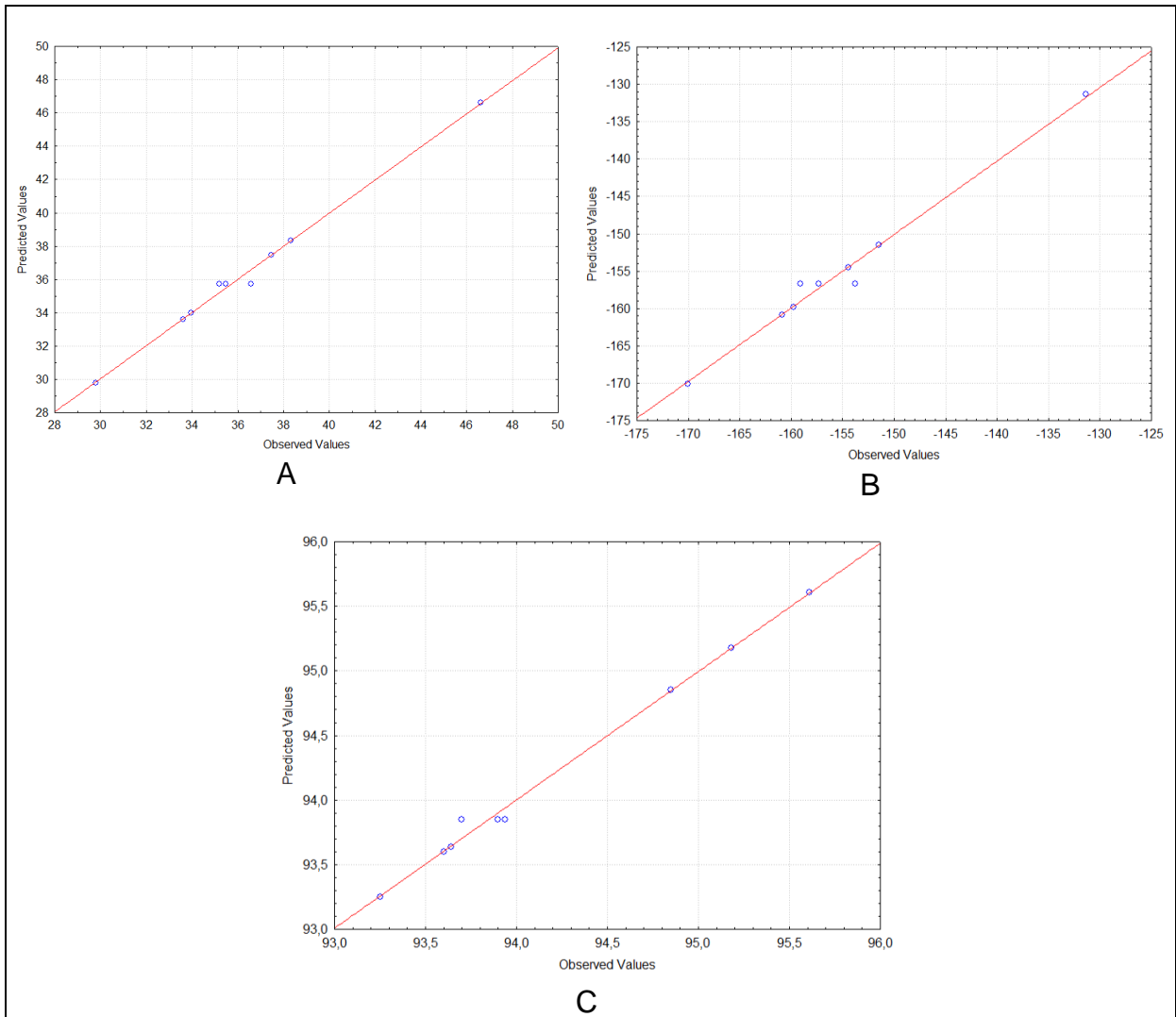
**Figura 28** - Superfície de contorno para  $\Delta H^\ddagger$  (A),  $\Delta S^\ddagger$  (B),  $\Delta G^\ddagger$  (C).



Fonte: O autor (2022).

Na Figura 28, observa-se que as linhas de contorno são muito semelhantes para os três parâmetros termodinâmicos estudados (Figura 28 A, B e C), indicando que a região com melhor resposta é próxima a mistura de 50% P.O e 50% vitamina E e a região com pior resposta é a mistura de 50% ácido cítrico e 50% vitamina E.

**Figura 29** - Gráficos da dispersão entre os valores preditos e observados para a  $\Delta H^\ddagger$  (A),  $\Delta S^\ddagger$  (B),  $\Delta G^\ddagger$  (C).



Fonte: O autor (2022).

Na Figura 29 nota-se que para os três parâmetros os resultados observados seguem com boa correlação os valores preditos pelos modelos. Ademais, para todos os

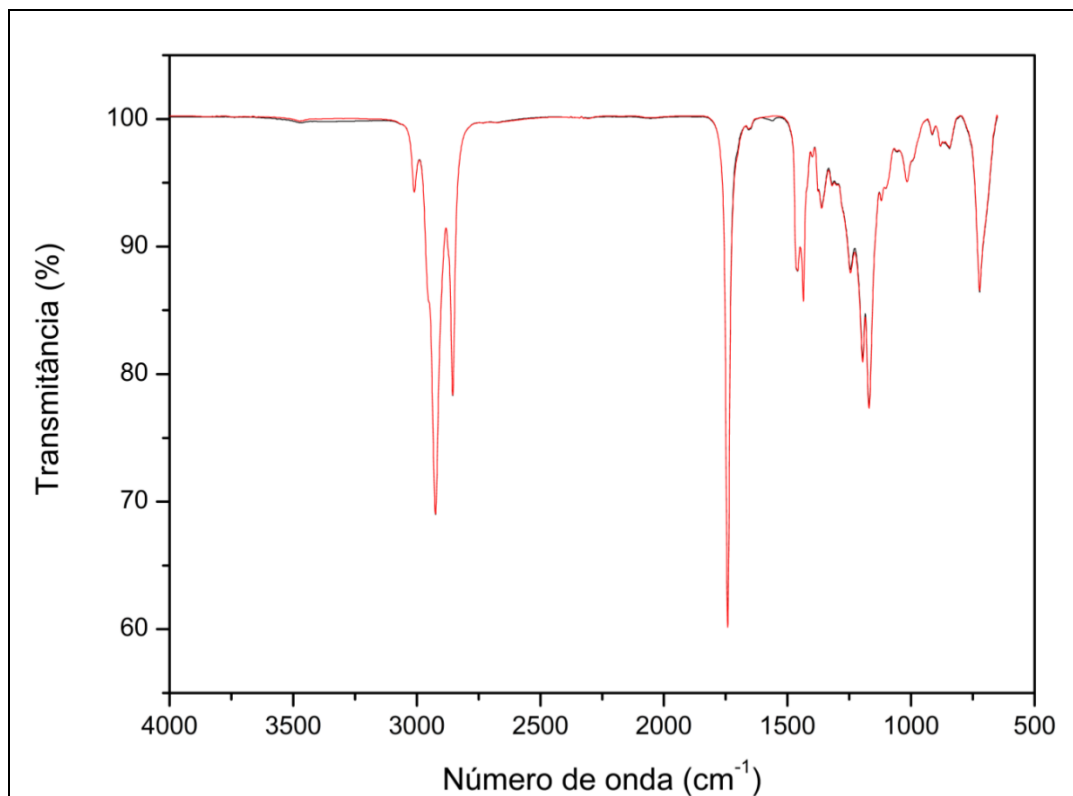


modelos os dados seguem o mesmo comportamento, estando dispersos e próximos da reta, de maneira muito semelhante.

### 5.5 Caracterização do biodiesel e do *Pleurotus ostreatus*

Utilizou-se as técnicas FTIR-ATR e CG-MS para a caracterização das amostras. Na Figura 30 apresenta-se o espectro FTIR para o biodiesel B100 e o experimento 5 do segundo delineamento ( $x_1, x_3$ ), e a Tabela 20 contém as bandas presentes na região do infravermelho médio.

**Figura 30** - Espectro de absorção na região do infravermelho para o biodiesel B100 (—) e para o ensaio 5 do segundo delineamento experimental (—).



Fonte: O autor (2022).

**Tabela 20-** Relação de bandas encontradas no espectro na região do infravermelho médio para o biodiesel B100 e biodiesel com P.I mais elevado.

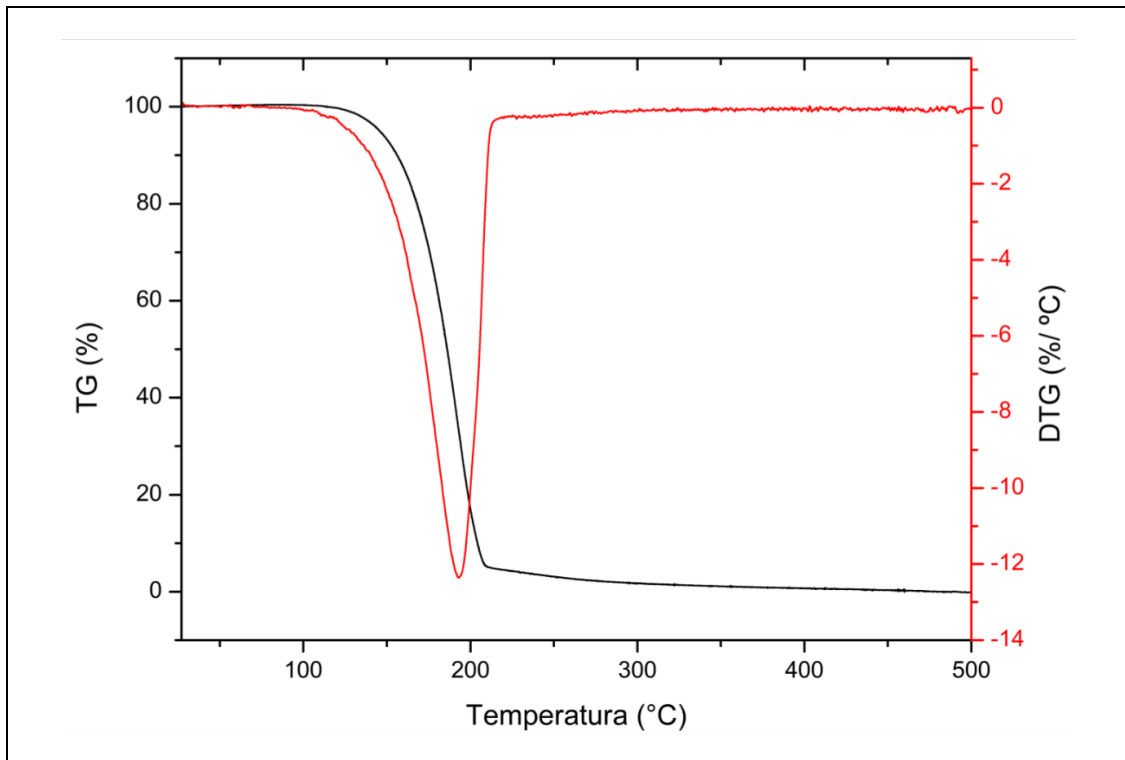
| Número do pico | Branco (controle)                  |                   | Otimizado                          |                   |
|----------------|------------------------------------|-------------------|------------------------------------|-------------------|
|                | Número de onda (cm <sup>-1</sup> ) | Transmitância (%) | Número de onda (cm <sup>-1</sup> ) | Transmitância (%) |
| 1              | 3010                               | 94,25             | 3009                               | 90,26             |
| 2              | 2924                               | 68,99             | 2924                               | 66,90             |
| 3              | 2854                               | 78,31             | 2854                               | 75,36             |
| 4              | 1742                               | 60,45             | 1742                               | 60,53             |
| 5              | 1459                               | 88,08             | 1459                               | 84,97             |
| 6              | 1436                               | 85,73             | 1436                               | 82,65             |
| 7              | 1362                               | 93,10             | 1362                               | 89,32             |
| 8              | 1245                               | 88,19             | 1246                               | 85,98             |
| 9              | 1196                               | 81,24             | 1196                               | 79,72             |
| 10             | 1170                               | 77,54             | 1170                               | 76,42             |
| 11             | 1016                               | 95,09             | 1015                               | 91,13             |
| 12             | 723                                | 86,43             | 722                                | 84,28             |
| 13             | 845                                | 97,67             | 844                                | 93,65             |

A banda vibracional na região entre 3009 e cm<sup>-1</sup> representa estiramento de HC=CH juntamente com a banda 721 cm<sup>-1</sup> de desdobramento fora do plano indicam ligação dupla, oriundas das insaturações na cadeia lateral carbônica – (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>. Adicionalmente, os picos de 2924 e 2854 cm<sup>-1</sup> indicam grupo -CH<sub>2</sub>- corroborando as cadeias alifáticas provenientes dos ácidos graxos. O pico intenso e bem definido em 1742 cm<sup>-1</sup> representa o grupamento carbonila de ésteres metílicos (C=O). Em 1245 cm<sup>-1</sup> a banda é típica da vibração de C-CO-O-. As bandas em 1436 e 1362 cm<sup>-1</sup> são características da deformação da ligação dos grupos -O-CH<sub>3</sub> e -O-CH<sub>2</sub>. Já as bandas de 1168 e 1194 e 1016 cm<sup>-1</sup> representam a vibração da ligação C-O.

Todas as bandas descritas anteriormente são típicas de biodiesel. Ademais, a ausência de bandas entre 3640 a 3610 cm<sup>-1</sup> e 3500 a 3200 cm<sup>-1</sup> indicam que o biodiesel não contém glicerol, metanol e água, respectivamente.

A Figura 31 apresenta a curva da primeira derivada para o biodiesel B100.

**Figura 31** - Curva termogravimétrica (TG) e primeira derivada (DTG) para biodiesel B100.



Fonte: O autor (2022).

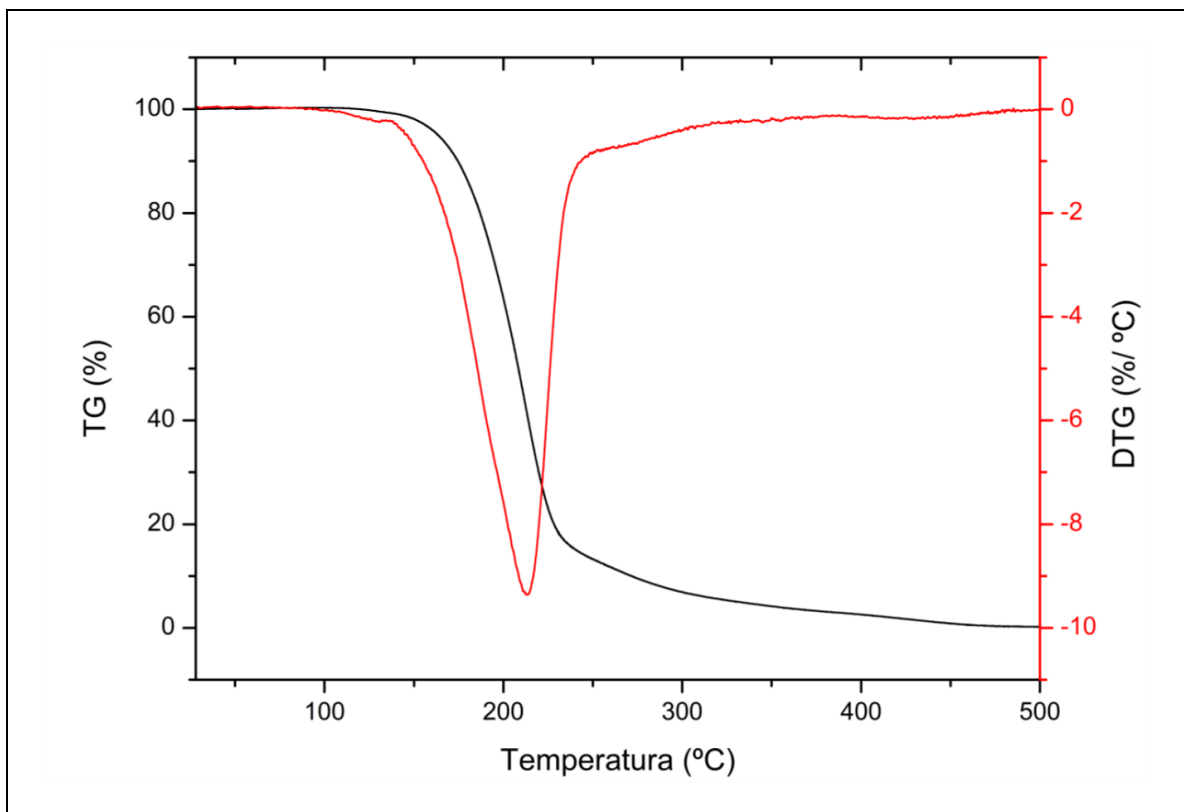
Observou-se três etapas de perda de massa, a primeira entre 68,38 e 119,85 °C, tendo pico em 110,78 °C e representando diminuição de 0,98%. A segunda, principal e mais intensa, teve início em 119,85 °C, com  $T_{\text{pico}}$  192,6 °C, e final em 230,22 °C, perda de massa de 96,14 %, e temperatura de pico em 197,88 °C; este evento está relacionado à termoxidação dos ésteres metílicos de massa molar intermediária. Por último, a terceira etapa se deu entre 230,22 e 298,12 °C, tendo pico em 260,66 °C, sendo característica da degradação dos mesmos compostos com massa molar elevada, caracterizando uma perda de 2,87% de massa (GONDIM, 2017; BOSCHEN, 2020).

A primeira perda de massa começou em 68,38 °C e terminou em 119,85 °C, representando uma diminuição de 0,98%, com temperatura de pico 110,78 °C. A segunda decomposição, sendo a principal e mais intensa, iniciou-se em 119,85 °C,

com  $T_{\text{pico}}$  192,6°C, indo até 230,22 °C, onde houve perda de massa de 96,14%, com temperatura de pico em 197,88 °C. Esse evento está relacionado ao processo de termoxidação dos ésteres metílicos de massa molar intermediária. A terceira etapa iniciou-se em 230,22 °C e terminou em 298,12 °C, com  $T_{\text{pico}}$  em 260,66 °C, caracterizada pela degradação dos ésteres metílicos de massa molar mais elevada, com perda de massa de 2,87% (GONDIM, 2009; BOSCHEN, 2020).

A Figura 32 apresenta a curva da primeira derivada para o ensaio 5 do segundo delineamento.

**Figura 32** - Curva termogravimétrica (TG) e primeira derivada (DTG) para biodiesel ensaio 5.



Fonte: O autor (2022).

A primeira perda de massa começou em 87,95 °C e terminou em 137,91 °C, representando uma diminuição de 0,9993%, com temperatura de pico de 129,88 °C. A segunda decomposição, sendo a principal e mais intensa, iniciou-se em 137,91 °C e terminou em 245,91 °C, onde houve perda de massa de 85,86%, com temperatura de pico em 197,88 °C. Esse evento está relacionado ao processo de termoxidação dos

ésteres metílicos de massa molar intermediária. A terceira etapa de decomposição iniciou-se em 245,91 °C e terminou em 316,31 °C, com  $T_{\text{pico}}$  em 274,90 °C, caracterizada pela degradação dos ésteres metílicos de massa molar mais elevada, com perda de massa de 8,11% (GONDIM, 2009; BOSCHEN, 2020). A perda de massa até o final do terceiro evento foi de 94,97 %, a qual foi atribuída a decomposição total do biodiesel.

Adicionalmente, foi observado um quarto evento entre as temperaturas de 383,89 e 470,94 °C (com  $T_{\text{pico}}$  em 429,34 °C) o qual foi relacionado a degradação térmica de ácidos graxos provenientes muito provavelmente da extração da *Pleurotus ostreatus*. A perda de massa foi de 2,6219 %. É possível notar essa semelhança na TG/DTG da *Pleurotus ostreatus* in natura na Figura 33.

É possível observar nos dados apresentados na Tabela 21, que a adição de antioxidantes ao biodiesel otimizado, elevou a temperatura de degradação térmica nos três eventos em relação ao biodiesel B100.

**Tabela 21** - Eventos de degradação térmica, temperaturas para biodiesel B100 e biodiesel ensaio 5.

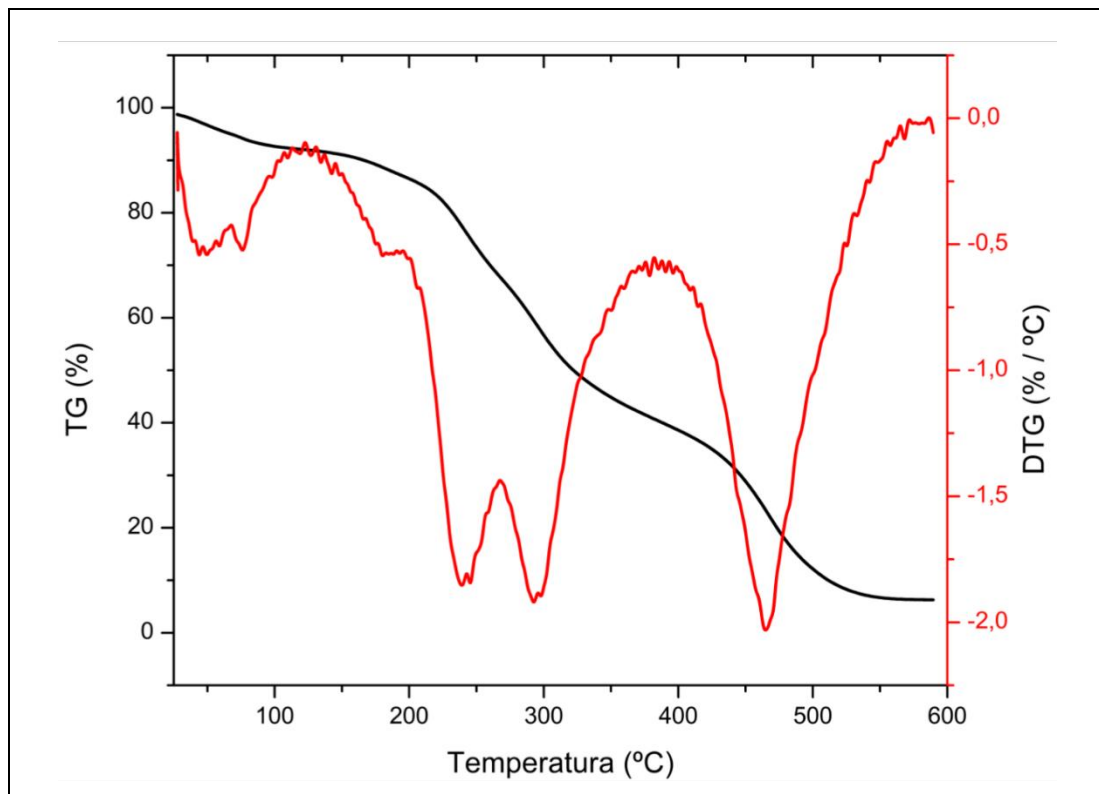
| Eventos | Temperatura B100 (°C) | Temperatura Biodiesel Ensaio 5 (°C) |
|---------|-----------------------|-------------------------------------|
| T1      | 68,38                 | 87,95                               |
| T2      | 119,85                | 137,91                              |
| T3      | 230,22                | 245,91                              |

Fonte: o Autor (2022).

Houve um aumento de 19,57, 18,05 e 15,69 °C para  $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_3$ , respectivamente. Pode-se concluir que a adição dos antioxidantes aumentou a estabilidade térmica do biodiesel, corroborando com os resultados estabilidade oxidativa, energia de ativação, entalpia, entropia e energia livre de Gibbs.

A Figura 33 apresenta a curva da primeira derivada para o *Pleurotus ostreatus* in natura.

**Figura 33** - Curva termogravimétrica e primeira derivada para o *Pleurotus ostreatus* in natura.



A tabela 22 apresenta os eventos de degradação térmica do *Pleurotus ostreatus*.

**Tabela 22** - Eventos de degradação térmica do *Pleurotus ostreatus*.

| Evento | Ti (°C) | % <sub>oi</sub> | Tf (°C) | % <sub>of</sub> | $\Delta_m$ % | T pico (°C) | Compostos                    |
|--------|---------|-----------------|---------|-----------------|--------------|-------------|------------------------------|
| 1      | 25      | 100             | 124,76  | 92,79           | 7,21         | 51,02       | Água, COV                    |
| 2      | 124,76  | 92,79           | 197,08  | 87,024          | 5,7659       | 180,52      | Antioxidantes, flavorizantes |
| 3      | 197,08  | 87,02           | 207,78  | 85,509          | 1,5149       | 204,57      | Ácidos graxos                |
| 4      | 207,78  | 85,50           | 266,95  | 67,94           | 17,569       | 239,97      | Carboidratos                 |
| 5      | 266,95  | 67,94           | 385,61  | 40,706          | 27,234       | 292,28      | Proteínas                    |
| 6      | 385,61  | 40,70           | 596,29  | 6,2925          | 34,414       | 465,08      | Fibras alimentares           |

Fonte: O autor (2022).

O primeiro evento começa desde o início da análise, em 25°C até 96,47°C, sendo caracterizado pela evaporação de água, com perda de massa de 7,21% (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Esse valor é compatível com o processo de desidratação aplicado no *Pleurotus ostreatus* após a colheita, onde a umidade desejada é de 5% para manter as propriedades físico-químicas (vida útil) e evitar a proliferação de bactérias (APATI, 2004).

O segundo inicia-se em 96,47°C e termina em 195,09 °C com perda de massa de 5,7659%. Essa degradação foi atrelada a decomposição térmica dos lipídeos de massa molar intermediária, sendo eles: ácido n-pentadecanóico (C16:0), ácido hexadecanóico (ácido palmítico C16:1), ácido linoleico (C18:2), ácido esteárico (C18:0), ácido cis-9-octadecenoico (ácido oleico C18:1). Esses compostos foram encontrados na análise de CG-MS do extrato metanólico. Os resultados encontram-se na tabela 17.

O terceiro evento se iniciou em 195,09 °C e terminou em 207,78 °C, com perda de massa de 1,5149%, onde possivelmente ocorreu a degradação da mesma classe dos compostos do segundo evento, porém, com maior massa molar.

Já o quarto e quinto evento ocorreram nos intervalos de temperatura de 207,78 °C até 266,95 °C e 266,95 °C até 382,12 °C, com perda de massa de 17,5691% e 27,2340% respectivamente. As duas degradações foram atribuídas a decomposição de carboidratos e proteínas, sendo diferenciadas pela massa molar, onde os carboidratos e proteínas menos complexos são termoxidados primeiro e, posteriormente, os mais complexos.

Por último, o sexto evento ocorreu entre 382,12°C até 586,29 °C, com perda de massa de 34,42%. Essa degradação foi atrelada a decomposição das fibras alimentares, tal como as beta-glucanas comumente encontrada nas paredes celulares dos cogumelos (SECHI, 2017).

O ensaio de análise termogravimétrica do *Pleurotus ostreatus* degradou 93,70% da massa da amostra. Os 6,30% de massa residual foram atribuídos aos minerais normalmente presentes nessa espécie de cogumelo, tais como: Cobre, Potássio, Fósforo, Ferro, Zinco. As condições da análise como atmosfera nitrogênio e temperatura máxima de 600 °C não são capazes de degradar esses elementos. Furlani e

colaboradores (2007) encontraram teor de cinzas de 5,61 a 8,42%, portanto o resultado de 6,30% está de acordo com a literatura.



## 6. CONCLUSÕES

O uso dos extratos do cogumelo *Pleurotus ostreatus* apresentou efeito antioxidante, uma vez que, a estabilidade oxidativa do biocombustível aumentou. Portanto, pode ser utilizado como antioxidante natural em biodiesel.

O período de indução para o biodiesel B100 foi de  $3,58 \pm 0,03$ . Os processos de extração aquosa ácida, orgânica neutra e orgânica básica com concentração de  $5 \text{ g L}^{-1}$  foram avaliados e demonstram eficácia, uma vez que, houve aumento de 159,2%, 113% e 139,6%, respectivamente. O emprego da extração aquosa ácida se destacou com efeito antioxidante superior das demais.

O delineamento experimental foi executado com sucesso. As figuras de mérito, tais como, coeficiente de correlação, superfície de resposta, diagrama de Pareto, foram satisfatórias de acordo com a literatura. Adicionalmente, o modelo proposto pelo simplex centroide assim como os valores de p e F na ANOVA foram significativos em nível de 5%.

Ao se estudar a mistura do extrato aquoso do *Pleurotus ostreatus* ( $2,5 \text{ g L}^{-1}$ ) com 75 ppm de vitamina E apesar de obter efeitos sinérgicos não se obteve o período de indução desejável pela norma brasileira, somente pela europeia. Entretanto o resultado de 10,91 h demonstra um aumento excelente na proteção do biodiesel contra oxidação.

Adicionalmente, determinou-se o tempo de estocagem do biodiesel em temperatura ambiente de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  do ensaio 5 do segundo delineamento experimental. Sendo verificado que o biodiesel permanece estocado sem perder suas propriedades físico-químicas por até 400 dias.

Os ensaios cinéticos mostraram o processo oxidativo do biodiesel B100 (sem antioxidante) segue a ordem 1 ( $k = 1,0277 \text{ s}^{-1}$ ), e que na presença de *Pleurotus ostreatus* e na mistura de  $2,5 \text{ g L}^{-1}$  com 75 ppm de vitamina E ( $k = 0,4758 \text{ s}^{-1}$ ) foram da mesma ordem, ou seja, que em presença dos antioxidantes não houve mudança no processo cinético de oxidação do biodiesel. A análise termodinâmica da mistura P.O  $2,5 \text{ g L}^{-1}$  com 75 ppm de vitamina E, mostrou  $E_a = 49,87 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $\Delta H^\ddagger = 46,61 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $\Delta S^\ddagger = -131,33 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  e  $\Delta G^\ddagger = 95,61 \text{ kJ mol}^{-1}$ , tratando-se um processo inibidor oxidativo não espontâneo, endotérmico e com menor desorganização reacional oxidativo, quando

comparado a amostra B100:  $E_a = 29,06 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $\Delta H^\ddagger = 25,80 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $\Delta S^\ddagger = -179,20 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  e  $\Delta G^\ddagger = 92,67 \text{ kJ mol}^{-1}$ .

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIDA, A. *et al.* Mushroom as a potential source of prebiotics: a review. **Trends in Food Science and technology**. v. 20, p. 567 – 575, 2009.

ANDREO, D; JORGE, N. Natural Antioxidants: extraction techniques. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Resolução nº 821 de 17 de junho de 2020. Altera o percentual de mistura obrigatória do biodiesel ao diesel A, no período entre os dias 16 e 21 de junho de 2020. **Lex**: Diário Oficial da União, ed. 115, seção 1, p. 58. Brasília, 18 de junho de 2020.

ANGILELLI, K. G.; FERREIRA, B. A. D.; SILVA, L. R. C.; CHENDINSKY, L. T.; BORSATO, D. Evaluation of the kinetic and thermodynamic parameters of oxidation reaction in biodiesel from a quaternary mixture of raw material. **Acta scientiarum**. v. 39, n. 2, p. 241-248. 2017.

ANPC (Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos. 2019. Disponível em: <<https://www.anpccogumelos.org>>. Acesso em: 02 de dez de 2021.

APATI, G. P. **Secagem e resfriamento a vácuo de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus* DSM 1833**. 2004. 77. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

ASHWATI KUMAR, K. *et al.*, Development and Storage Stability of Buckwheat - chia seeds fortified biscuits. **International Journal of Food and Fermentation Technology**. v. 6, 103 – 110, 2016.

ATKINS, P.; DE PAULA, J. **Físico-Química: Fundamentos**. Nova York, W. H. Freeman and Company. 2006.

(a) BISHT, D.; YADAV, S. K.; DARMWAL, N. D. Optimization of Immobilization Conditions by Conventional and Statistical Strategies for Alkaline Lipase Production by *Pseudomonas aeruginosa* Mutant Cells: Scale-up at Bench-Scale Bioreactor Level. **Turkish Journal of biology**. V. 37, n. 4, p. 392 – 404, 2013

(b) BISHT, D.; YADAV, S. K.; DARNWAL, N. D. Computation of interactive effects and optimization of process parameters for alkaline lipase production by mutant strain of *Pseudomonas aeruginosa* using response surface methodology. **Brazilian Journal of Microbiology**. V, 44, n. 1, p. 245 – 252, 2013.

BORSATO, *et al.* Otimização das condições de obtenção de biodiesel de óleo de soja utilizando o delineamento experimental de mistura. In: Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, 2010, Londrina. **Anais**. Londrina: UEL. 2010, p. 03 – 13

BOSCHEN, N. L. **Estudo da aplicação de antioxidante natural para biodiesel e óleo de soja**. 2016. 66p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, Guarapuava, 2016.

BOSCHEN, N. *et al.* APLICAÇÃO DO RESÍDUO DO FRUTO DE TUCUMÃ (*Astrocaryum aculeatum*) COMO ANTIOXIDANTE PARA O BIODIESEL. In: RIBEIRO, J. C.; dos SANTOS, C. A. **Estudos Teórico- Metodológicos nas Ciências Exatas, Tecnológicas e da Terra 2**. Ed. 2, 2020, p. 70 – 79.

CALAÇA, G. N.; STETS, S.; NAGATA, N. Determinação simultânea de ácido kójico e hidroquinona por espectrofotometria visível e calibração multivariada. **Química Nova**. v. 34, n. 4, p. 630-635. 2011.

CAMPOS, T. M. B.; THIM, G. P. In: XIV ENCITA. 2008, São José dos Campos. **Anais**. EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO E DO ÁCIDO CÍTRICO NA CRISTALIZAÇÃO DA MULITA. ITA, 2008.

CENTENARO, G. S. **Obtenção de biopeptídeos com atividade antioxidante a partir de proteínas de origem animal**. 155 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande Sul, Rio Grande, 2011.

CHAGAS, S. Q. M. **Análises de viabilidade e interesse na produção de ácido glicólico e compostos antioxidantes a partir da casca da banana**. 64 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2020.

CHOWDHURY, S. *et al.* Effects of the Dietary Approach to Stop Hypertension (DASH) diet on cardiovascular risk factors: a systematic review and meta-analysis. **Brazilian Journal of Nutrition**. V. 113, n. 1, p. 1 – 15, 2015.

CHRISTENSEN, E.; McCORNICK, R. L. Long-term storage stability of biodiesel and biodiesel blends. **Fuel Processing Technology**. v. 128, p. 339, 348, 2014.

CNPE (Conselho Nacional de Políticas Energéticas). Resolução nº 16 de 29 de outubro de 2018. Dispõe sobre a evolução da adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel vendido ao consumidor final, em qualquer parte do território nacional. **Lex**: Diário Oficial da União (DOU). Brasília, 8 de nov de 2018.

COPPO, R. L. **Determinação do tempo de estocagem de biodiesel comercial em mistura otimizada de antioxidantes naturais**. 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

da SILVA, P. Cogumelos. Disponível em: <<https://www.infoescola.com/reino-fungi/cogumelo>>. Acesso em: 26 de novembro de 2021.

DANIELA, M.; SOVRANI, V.; SANTA, O. R. D. Cogumelos. In: H. Stutz; D. C. Alvarez (Orgs.). **Produção de cogumelos: Uma experiência na Região Centro-Sul do Paraná**. Editora CRV, p.122, 2017. Curitiba - PR.

DUBOST, N. J.; OU, B.; BEELMAN, R. B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chemistry**. v. 105, n 2, p. 727 – 735, 2007.

DUNDAR, A.; ACA, H.; YILDIZ, A. Effect of using different lignocellulosic wastes for cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. on mushroom yield, chemical composition and nutritional value. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 4, p. 662 – 666, 2009

En 14112, Fat and Oil Derivatives Fatty Acid Methyl Esters (FAME): Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test). (2020). [\[Link\]](#)

European Committee for Standardization (CEN). **EN 14214**. 19 de fevereiro de 2019.

EPE (Empresa de Pesquisa Energética). **Balço Energético Nacional (BEN) 2019: Ano Base 2018**. Rio de Janeiro, EPE, 2019.

EYRING, H. The Activated Complex in Chemical Reactions. **The Journal of Chemical Physics**. v. 3, n. 2, p. 107 – 115, 1935.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja: Taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 19–23, 2005.

FIGUEREDO, I. de M. **Biodiesel de Soja e Girassol: Avaliação da Estabilidade Oxidativa por Rancimat e DSC**. 2017. Dissertação (Graduação em Engenharia do Petróleo) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

FREEDMAN, B.; BAGBY, M. O. Heats of combustion of fatty esters and triglycerides. **Journal of the American Oil Chemists Society**. v. 66, n. 11, p.1601-1605, 1989.

FOCKE, W. W. *Et al.* The effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. **Fuel**. v. 94, p. 227 – 233, 2012.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Food Science and Technology**. v. 27, n. 1, p. 154 – 157, 2007.

GALLINA, L. **Uma alternativa sustentável para a produção de biodiesel : *Cyperus esculentus***. 2011. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) - Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava-PR.

GALVAN, D.; ORIVES, J. R.; COPPO, R. L.; RODRIGUES, C. H. F.; SPACINO, K. R.; PINTO, J. P.; BORSATO, D. Estudo da cinética de oxidação de biodiesel B100 obtido de óleo de soja e gordura de porco: determinação da energia de ativação. **Química Nova**, v. 37, p. 244-248, 2014.

GARCIA, C. M. **Transesterificação de óleos vegetais**. 120 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

GERIS, R.; ALESSANDRA, N.; AMARAL, B. A.; *et al.* Biodiesel de soja - Reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1369–1373, 2007.

GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Degradação térmica de tocoferol e produtos de oxidação em diferentes classes de azeite de oliva utilizando espectroscopia UV-Vis e MCR-ALS. **Química Nova**. v. 38, n. 06, 2015.

GONZÁLEZ-PALMA, I.; ESCALONA-BUENDÍA, H. B.; PONCE-ALQUICIRA, E.; TÉLLEZ-TÉLLEZ, M.; GUPTA, V. K.; DÍAZ-GODÍNEZ, G.; SORIANO-SANTOS, J.; Evaluation of the Antioxidant Activity of Aqueous and Methanol Extracts of *Pleurotus ostreatus* in Different Growth Stages. **Frontiers in Microbiology**, v.7, p. 1099, 2016.

GONDIM, A. D. **Avaliação da estabilidade térmica e oxidação do biodiesel de algodão e do efeito da adição de antioxidantes ( $\alpha$ -tocoferol e BHT)**. 247 f. Tese (Doutorado em Química) – Setor de Ciências da Terra. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

GONDIM, A. D.; SANTOS, M. F. V.; OLIVEIRA, T. P.; PEIXOTO, C. G. D.; BATISTA, A. C. M.; FERNANDES JR., V. J. Produção de Biodiesel por Transesterificação Utilizando Catalisador Heterogêneo (KOH/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). **Holos**, v. 1, p. 241–254, 2017.

HARTOG, G. J. M.; BOOTS, A. W., ADAM-PERROT, A.; BROUNS, F.; VERKOOIJEN, I. W.; WESELER, A. R.; HAENEN, G. R.; BAST, A. Erythritol is a sweet antioxidant. **Nutrition**, v. 26, n. 4, p. 449-458, 2010.

JAYAKUMAR, T.; THOMAS, P. A.; GERALDINE, P. In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 2, p. 228–234, 2009. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2008.07.002>>.

JAIN, S.; SHARMA, M. P. Stability of biodiesel and its blends: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.14, p. 667–678, 2010.

KAHL, R.; KAPPUS, H. Toxicology of the synthetic antioxidants BHA and BHT in comparison with the natural antioxidant vitamin E. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, v. 196, n. 4, p. 329–38, 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8493816>>.

KALYONCU, F.; OSKAY, M.; KAYALAR, H. Antioxidant activity of the mycelium of 21 wild mushroom species. **Mycology**, v. 1, n. 3, p. 195–199, 2010.

KITZBERGER, C. S. G.; SMÂNIA, A.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 2, p. 631–638, 2007.

KLEINBERG, M. N.; RIOS, M. A. S.; BUARQUE, H. L. B.; PARENTE, M. M. V.; CAVALCANTE JR., C. L.; LUNA, F. M. T. Influence of Synthetic and Natural Antioxidants on the Oxidation Stability of Beef Tallow Before Biodiesel Production. **Waste and Biomass Valorization**, v. 10, n. 4, p. 797–803, 2019.

KNOTHE, G. Estabilidade à Oxidação do Biodiesel. In: KNOTHE, G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J.; RAMOS, L. P. (Eds.). **Manual de Biodiesel**. 1a ed. São Paulo: Blucher, 2006. p. 340.

KOUTROTSIOS, G.; KALOGEROPOULOS, N.; STATHOPOULOS, P.; KALIORA, A. C.; ZERVAKIS. Bioactive compounds and antioxidants activity exhibit high intraspecific variability in *Pleurotus ostreatus* mushrooms and correlate well with cultivation performance parameters. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 33 (5), p. 98, 2017.

KUMAR, N. Oxidative stability of biodiesel: Causes, effects and prevention. **Fuel**, v. 190, p. 328–350, 2016.

LAM, Y. S.; OKELLO, E. J. Determination of Lovastatin,  $\beta$ -glucan, Total Polyphenols, and Antioxidant Activity in Raw and Processed Oyster Culinary-Medicinal Mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Higher Basidiomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 15, n. 2, p. 117-128, 2015.

LINDEQUIST, U.; NIEDERMEYER, T. H. J.; JÜLICH, W. D. The pharmacological potential of mushrooms. Evidence-based Complementary and Alternative **Medicine**, v. 2, n. 3, p. 285–299, 2005.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; DA CRUZ, R. S. Biodiesel: Parâmetros de Qualidade e Métodos Analíticos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596–1608, 2009.

MAIA, G. A. R.; LARSSON, L. F. G.; VIOMAR, A.; *et al.* Aperfeiçoamento da produção de partículas de óxido de zinco para aplicação em células solares. **Cerâmica**, v. 62, n. 361, p. 91–97, 2016.

MARTÍNEZ-FLORES, H. E.; CONTRERAS-CHÁVEZ, R.; GARNICA-ROMO, G.; Effect of Extraction Processes on Bioactive Compounds from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus djamor*. Their Applications in the Synthesis of Silver Nanoparticles. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, v.31, p. 1406, 2020.

MEDEIROS, M. L.; CORDEIRO, A. M. M. T., QUEIROZ, N.; SOLEDADE, L. E. B.; SOUZA, A. L.; SOUZA, A. G. Efficient antioxidant formulations for use in Biodiesel. **Energy Fuels**, v. 28, p. 1074–1080, 2014.

MENEGHETTI, S. P.; MENEGHETTI, M. R.; BRITO, Y. C. A Reação de Transesterificação, Algumas Aplicações e Obtenção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 1, p. 63–73, 2013.

METROHM. **Manual 873 Biodiesel Rancimat**. 3a ed. Switzerland: Metrohm AG, 2009.

MME. **MME Ministério de Minas e Energia**. Disponível em: <[www.mme.gov.br](http://www.mme.gov.br)>. Acesso em: 17 nov. 2021.

MOLINARES, M. A. A. Uso de resíduo de *Annona muricata* L. como antioxidante em biodiesel, 2019. UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE.

OLIVEIRA, J. M.; STUTZ, H. TAKAYANAGUI, M. M.; LIMA, S. A.; TORRES, Y. R. Cogumelo hiratake cultivado em azevém com erva medicinal. IV Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos. 2018. ISSN 2447-3650.

PAVANELLO, G. P. **O uso de resíduo de *Eremanthus erythropappus* como antioxidante em biodiesel**, 2017. Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná.

POKORNÝ, J. Are natural antioxidants better - and safer - Than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 6, p. 629–642, 2007.

PRADO, R.; FURLANI, Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis Nutritional value of edible mushrooms. , v. 27, n. 1, p. 154–157, 2007.



- QUADROS, D. P. C. DE; CHAVES, E. S.; SILVA, J. S. A.; *et al.* Contaminantes em biodiesel e controle de qualidade. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 5, p. 376–84, 2011.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Guanabara ed. Rio de Janeiro, 2007.
- ROMAGNOLI, E. S.; BORSATO, D.; SILVA, L. R. C.; CHENDYNSKI, L. T.; ANGILELLI, K. G.; CANESIN, E. A. Kinetic parameters of the oxidation reaction of commercial biodiesel with natural antioxidant additives. **Industrial Crops & Products**, v. 125, p. 59-64, 2018.
- ROSSI, G. Z.; BORGES, I. R.; PEREGO, T. F.; TOLEDO, V. D. M.; FERREIRA, L. F. P. Análise técnica da produção do biodiesel a partir do óleo de fritura residual. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 4, n. 1, p. 101–108, 2018. <https://doi.org/10.18540/jcecvl4iss1pp0101-0108>
- SECHI, N. S. M. **Fosforilação da (1→6)-β-D-glucana (lasiodiplodana): caracterização físico-química e estrutural**. 79 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2017.
- SILVA, A. C.; JORGE, N. Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes Mushrooms : Bioactive Compounds and Antioxidant Properties. **Cient Ciênc Biol Saúde** 20, p. 375–384, 2011.
- SILVA, A. S. C. **Parâmetros industriais para produção de *Pleurotus ostreatus***. 135 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – Rio Claro – SP. 2016.
- SOARES, A. A. **Atividade antioxidante e compostos fenólicos do cogumelo *Agaricus blazei* Murrill**. 57 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Maringá - UEM. Maringá - PR. 2007.
- SOUZA, A. G.; MEDEIROS, M. L.; CORDEIRO, A. M. M. T.; *et al.* Efficient antioxidant formulations for use in biodiesel. **Energy and Fuels**, v. 28, n. 2, p. 1074–1080, 2014.
- SPACINO, K. R.; SILVA, E. T. DA; ANGILELLI, K. G.; *et al.* Relative protection factor optimisation of natural antioxidants in biodiesel B100. **Industrial Crops and Products**, v. 80, n. February, p. 109–114, 2016.
- STURION, G, L.; RANZANI, M. R. T. C. **Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil: *Pleurotus* spp e outras espécies desidratadas**. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v. 50, n. 1, p. 102-108, 2000.

STAFUSSA, A. P.; ISIDORO, C. W.; CARVALHO, T. Compostos fenólicos totais, flavonóides e antocianinas de três variedades de cogumelos. Seminário de iniciação científica e tecnológica da UTFPR, n. Novembro, 2012.

SUDHA, G.; VADIVUKKARASI, S.; SHREE, R. B. I.; LAKSMANAN, P.; Antioxidant activity of various extracts from an edible mushroom *Pleurotus eous*. **Food Science and Biotechnology**, v.21, p.661, 2012.

TASSO, I. S. “**Avaliação sensorial de um adoçante de mesa com a utilização do eritritol como veículo**”. 85 p. Repositório UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em:[http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/3975/1/LD\\_PPGTAL\\_M\\_Tasso%2c%20I%20visson%20de%20Souza\\_2019.pdf](http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/3975/1/LD_PPGTAL_M_Tasso%2c%20I%20visson%20de%20Souza_2019.pdf). Acesso em: 05 mar. 2021.

TAVARES, A. C. D. CULTIVO DO COGUMELO COMESTÍVEL *Pleurotus ostreatus* INPA 1467: PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E MINERAL. p. 93, 2015.

TEIXEIRA, E. C.; MATTIUZI, C. D. P.; FELTES, S.; WIEGAND, F.; SANTANA, E. R. R. Estimated atmospheric emissions from biodiesel and characterization of pollutants in the metropolitan area of Porto Alegre-RS. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 3, p. 655–667, 2012.

TORRES-MARTÍNEZ, B.; VARGAS-SÁNCHEZ, R. D.; IBARRA-ARIAS, F. J.; IBARRA-TORRES, E. V.; TORRESCANO-URRUTIA, G. R.; SÁNCHEZ-ESCALANTE, A.; Effect of extraction solvent on chemical composition, physicochemical and biological properties of edible mushrooms extracts. **Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, v.24, p.1, 2021.

VALENGA, M. G. P.; BOSCHEN, N. L.; RODRIGUES, P. R. P.; MAIA, G. A. R. Agro-industrial waste and *Moringa oleifera* leaves as antioxidants for biodiesel. **Industrial Crops and Products**, v. 128, n. November 2018, p. 331–337, 2019. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.031>>.

VARGAS-SÁNCHEZ, R. D.; TORRESCANO-URRUTIA, G. R.; IBARRA-ARIAS, F. J.; PORTILLO-LOERA, J. J.; RÍOS-RINCÓN, F. G.; SÁNCHEZ- ESCALANTE, A.; Effect of dietary supplementation with *Pleurotus ostreatus* on growth performance and meat quality of Japanese quail. **Livestock Science**, v. 207, p. 117-125, 2018.

VIOMAR, A. **Estudo das variáveis da produção de biodiesel**, 2013. Universidade Estadual do Centro-Oeste.

YAHIA, E. M.; GUTIÉRREZ-OROZCO, F.; MORENO-PÉREZ, M. A. Identification of phenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in seventeen species of wild mushrooms in Central Mexico and determination of their antioxidant activity and bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 226, p. 14–22, 2017. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.044>>.

YAAKOB, Z.; NARAYANAN, B. N.; PADIKKAPARAMBIL, S.; UNNI K, S.; AKBAR P.; M. A review on the oxidation stability of biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 136–153, 2014.

YIM, H. S.; CHYE, F. Y.; TAN, C. T.; NG, Y. C.; HO, C. W. Antioxidant activities and total phenolic content of aqueous extract of *Pleurotus ostreatus* (cultivated oyster mushroom). **Malaysian Journal of Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 281–291, 2010.